FLORA

ODER ALLGEMEINE BOTANISCHE ZEITUNG

HERAUSGEGEBEN VON

DR. O. RENNER

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT JENA

NEUE FOLGE. 32. BAND

DER GANZEN REIHE 132. BAND

DRITTES HEFT

MIT 30 ABBILDUNGEN IM TEXT UND 2 TAFELN

Nachlaß von Prof. N. Ma

JENA

VERLAG VON GUSTAV FISCHER

1938

Flora. N. F. Band 32	Heft 3	S. 225—324, Jena, 1. 3. 1938

eine *Gymnadenia conopea* gesehen, die weißrandige Blätter besaß. Das ist alles, was mir an Chlorophylldefekten bei einheimischen, sonst grünen Orchideen bekanntgeworden ist, trotzdem ich fast immer an Orten gewohnt habe, wo Orchideen gewöhnlich sind (Ulm, München, Jena). Auch Herr Kollege Burgeff, der sich in Jena und anderswo so viel mit Orchideen beschäftigt hat, erinnert sich, wie er mir brieflich mitteilt, nicht eine blasse *Cephalanthera* oder *Epipactis* gesehen zu haben. Die zu beschreibende Anomalie ist also wohl nirgends häufig.

I. *Cephalanthera alba.*

A. Grüne Normalform, in nächster Nähe der blassen Pflanze im Tautenburger Forst bei Jena am 1. Juni 1936 gesammelt, eben in Blüte. Epidermis der Blätter beiderseits mit ziemlich großen blaßgrünen Plastiden. Spaltöffnungen nur unterseits, Schließzellen mit großen, grünen, mit Stärke angefüllten Plastiden, die großen Aggregatstärkekörner aus winzigen Körnchen zusammengesetzt, durch Jod braunviolett gefärbt[1]). Mesophyll mit großen, stärkefreien[2]) Chloroplasten; Rhaphidenzellen in der mittleren Schicht des Mesophylls zahlreich. Die Wurzeln, soweit sie ausgegraben wurden — die Spitzen fehlten oft —, mit großkörniger, oft zusammengesetzter Stärke vollgepfropft, die Schnittflächen deshalb weiß erscheinend; unter zahlreichen Wurzeln von drei Pflanzen nur eine einzige auf ein Stück von 1 cm Länge verpilzt und stärkearm gefunden; Rhaphidenzellen häufig.

B. Forma *albina*. Ein schwacher Stengel mit 3 Niederblättern, 4 Laubblättern, 5 Blütenknospen, 23 cm hoch, am 1. Juni unter Buchen bei Tautenburg gesammelt, ganz ohne Grün, milchweiß bis cremefarben. Epidermis der Laubblätter beiderseits mit ziemlich großen farblosen Plastiden. Spaltöffnungen nur unterseits, Schließzellen mit kleinen farblosen Plastiden, mit Häufchen winziger, sich mit Jod braunviolettfärbender Stärkekörnchen, und mit einzelnen größeren, selten über 1 μ großen Stärkekörnern; die Stärkemenge viel kleiner als in den grünen Blättern. Mesophyll mit spärlichen, kleinen, farblosen, nur in der Nähe der Nerven etwas gelblich gefärbten Plastiden; Rhaphidenzellen in der mittleren Schicht des Mesophylls zahlreich. Die Zellwände, besonders die äußeren der Epidermis und die Wände der Sklereiden an den Nerven, dünner als

1) Vgl. dazu Burgeff (1932, S. 196 und vorher) über „mikropolyadelphische" Stärkekörner bei Orchideen. In der Tabelle der Stärkecharaktere bei Orchideen, S. 202, sind *Cephalanthera* und *Epipactis* nicht aufgeführt.

2) *Cephalanthera* wie *Epipactis* haben nach Burgeff (1909, S. 172) Zuckerblätter.

bei der grünen Form, sonst der Bau des Blattes durchaus normal. Von 7 Wurzeln 3 stellenweise verpilzt, 4 ohne Pilz gefunden, bald ziemlich stärkereich, bald frei von Stärke, nie so mit Stärke angefüllt wie bei der grünen Form; Rhaphidenzellen häufig.

II. *Epipactis latifolia* f. *albina.*

1. Der von Prof. Zimmer bei Landshut gesammelte Stengel ist 20 cm hoch, trägt 5 Laubblätter, das größte (im Herbar) 7 cm lang, 2,5 cm breit, und eine noch dicht geschlossene Infloreszenz mit vielen Blütenknospen.

2. Die erste von mir bei Jena im Sommer 1922 gefundene Pflanze ist 30 cm hoch, sie besitzt 3 Niederblätter und 6 Laubblätter, die (im Herbar) 5,5—8 cm lang und bis 2,5 cm breit sind, dazu eine noch sehr junge Infloreszenz, in der die Knospen von den Brakteen ganz verdeckt sind.

3. Pflanze vom Filsberg bei Sondershausen. Bei der ersten Auffindung (auf einer kleinen Waldblöße) am 24. Juli 1935 war der blühende Stengel 31 cm hoch und trug 6 Laubblätter, das größte (in Alkohol) 6,5 cm lang und 3,5 cm breit. Die Blütenknospen, über 20 an der Zahl, waren schon recht weit entwickelt, die älteste 12 mm lang. Bei dem zweiten Besuch am 24. Juli 1936 stand an der genau bezeichneten Stelle, also sicher aus demselben Rhizom erwachsen, wieder ein farbloser Stengel, 34 cm hoch, mit 7 Laubblättern von derselben Größe wie im Jahr zuvor und mit 30 Blütenknospen von derselben Größe (Fig. 1 u. 2).

Die Färbung war in beiden Jahren in allen Einzelheiten dieselbe. Fast milchweiß die Internodien, die Flächen der Laubblätter und die Brakteen, nur von der Spitze her die Blätter den Nerven entlang auf 1—1,5 cm, die Brakteen auf 2—3 mm grün bis grünlich; die oberen Laubblätter an der Spitze schon abgestorben und gebräunt. Gelblich die Blütenknospen. Violett überlaufen die untersten Blattscheiden, die kurzen dünnen Blütenstiele (nicht die Fruchtknoten) und die durch die äußeren Perigonblätter gefärbt durchschimmernde Lippe. Der Pollen war in den ältesten Blüten schon bis zu Tetraden entwickelt, aber die Exine noch ohne die Skulptur, wie sie bei reifem Pollen grüner Pflanzen ausgebildet ist.

Trotz sorgfältigem Suchen war weit und breit am Filsberg in beiden Jahren keine grüne Pflanze von *Epipactis* zu finden, der Vergleich mit der Normalform war also nicht so genau, wie es zu wünschen wäre, durchzuführen. Erst am Kyffhäuser fand ich eine auffallend zier-

liche, schmalblätterige Form von *Epipactis atrorubens* von ganz anderem Habitus als die Pflanze vom Filsberg, mit schwach verpilzten Wurzeln. Auch eine *Epipactis atrorubens* vom Landgrafenberg bei Jena hatte wenig Pilze in den stärkereichen Wurzeln, beträchtlich mehr ein *E. latifolia* von Mittenwald (bayerische Alpen, zwischen *Pinus montana* bei etwa 1000 m Meereshöhe). Aber unvergleichlich stärker verpilzt waren die Wurzeln der blassen Pflanze, von denen bei der zweiten Auffindung 13 ausgegraben wurden;

Fig. 1. *Epipactis latifolia* f. *albina* am Filsberg bei Sondershausen. Phot. K. Branco, Weimar. 24. Juli 1936.

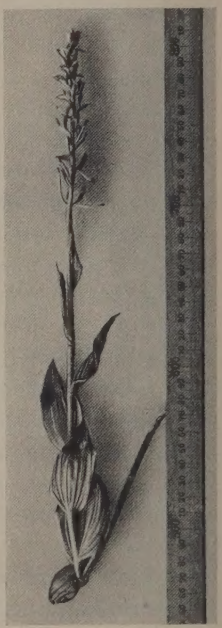


Fig. 2. Dieselbe Pflanze wie in Fig. 1, abgeschnitten.

die Zellen der Rinde sind fast sämtlich von großen Pilzklumpen ausgefüllt, nur die jüngsten Stücke enthalten wenige oder keine Pilze. Bei so extremer Verpilzung ist die holosaprophytische Lebensweise verständlich. Vermutlich hatte auch die blasse *Cephalanthera* von Tautenburg stärker verpilzte Wurzelteile als die, die mir in die Hände gefallen waren; die Wurzeln gehen sehr tief, das Spitzenstück hatte ich nur von der obersten Wurzel mit ausgehoben, aber ein anderes Mal soll tiefer gegraben werden.

Die anatomische Differenzierung des Stengels ist durchaus normal, ebenso die der grünen Blattspitzen. Die Chloroplasten im Mesophyll

sind hier groß, stärkefrei, an den Grenzen gegen die farblosen Bezirke kleiner, zart grün bis fast farblos. Im ganz farblosen Teil des Blattgrundes ist das Mesophyll deutlich zurückgeblieben, dünn, zartwandig, und enthält nicht einmal erkennbare Leukoplasten. Die Epidermiszellen auf beiden Seiten des Blattes ohne Plastiden, höchstens mit wenigen kleinen Leukoplasten beim Zellkern. Spaltöffnungen beiderseits, oben spärlicher, an der Blattspitze mit kurzem, meist nicht ganz verschließbarem Spalt. Schließzellen mit Leukoplasten, oberseits stärkefrei; unterseits im grünen Teil mit zahlreichen kleinen Stärkekörnchen, im farblosen Teil stärkefrei oder mit winzigen, eben noch sichtbaren Stärkekörnchen. — Rhaphidenzellen in allen Teilen häufig.

Besprechung.

Cephalanthera alba und *Epipactis latifolia* (wahrscheinlich auch die sehr nahe stehende *E. atrorubens*) vermögen infolge der Verpilzung ihrer Wurzeln ohne Chlorophyll Blütenstengel zu treiben. Bei der *Epipactis* von Sondershausen ist sicher beobachtet, daß dasselbe Rhizom in zwei aufeinanderfolgenden Sommern einen blassen Luftsproß erzeugte, und auch in den anderen Fällen handelte es sich ohne Zweifel um Chlorophyllverlust auf idiotypischer Grundlage. Ob im einzelnen Fall das genische System, das die Pigmentbildung in den Plastiden kontrolliert, defekt ist (forma *albinotica* nach Correns), oder die Plastiden selber mutiert sind (forma *albina* nach Correns), ist vorläufig nicht zu entscheiden. Häufiger ist bekanntlich bei den Pflanzen, die genetisch geprüft werden konnten, das Defektwerden der Plastiden, und die beschriebenen blassen Formen sollen einstweilen als *albina* bezeichnet werden.

Bei *Epipactis* sind Blüten gefunden worden, in denen schon Pollentetraden entwickelt waren; ob die Blüten sich noch entfaltet hätten und der Pollen reif geworden wäre, ist nicht bekannt. Falls einmal reifer Pollen gefunden würde, müßte die Kreuzung mit der grünen Normalform versucht werden. Freilich müßte dann auch eine Methode für die Aufzucht aus Samen erst geschaffen werden.

An bevorzugten Stellen, nämlich an den Spitzen der Laubblätter und der Brakteen, bilden die Plastiden der blassen *Epipactis* noch beträchtliche Mengen von Chlorophyll. Daß diese Chloroplasten noch zu assimilieren vermögen, ist nicht ganz unwahrscheinlich, weil über den grünen Mesophyllbezirken die Schließzellen der Stomata viel mehr Stärke führen als anderswo. Aber daß die Schließzellenstärke nicht an Ort und Stelle durch Photosynthese gewonnnen sein muß, zeigen

die Spaltöffnungen der ganz chlorophyllosen *Cephalanthera alba* f. *albina*. Solche modifikatorische Schwankung der Pigmentbildung im Zusammenhang mit periodischen Erscheinungen bzw. mit der longitudinalen Symmetrie des Sprosses ist etwas ganz Gewöhnliches (vgl. R. 1936, S. 240 ff.).

Wie die Literatur zeigt und die eigenen Erfahrungen bestätigen, ist die Wurzelverpilzung der Normalformen von *Cephalanthera alba* und *Epipactis latifolia* sehr unregelmäßig. Nach Ziegenspeck sind die Wurzeln alter Pflanzen von *C. alba* pilzfrei (S. 137), ebenso die von *E. latifolia*, wenn sie auf Mineralboden wächst (S. 105). Auffällig starke Verpilzung, wie man sie bei den blassen Formen erwarten möchte, habe ich nur bei *Epipactis* gefunden, bei *Cephalanthera* war fast die Hälfte der untersuchten Wurzelstücke nicht verpilzt. Aber eine und dieselbe Wurzel kann in einem Teil pilzreich und in einem anderen Teil frei von Pilzen sein, und es wird nötig sein, das ganze Wurzelsystem grüner und bleicher Formen desselben Standorts, wenn möglich auch zu verschiedenen Jahreszeiten, vergleichend zu untersuchen. Sicher ist, daß bei beiden Arten eine kräftige Verpilzung ausreicht, um Laubsprosse mit völlig normaler anatomischer Differenzierung aufzubauen. Selbst zur Blütezeit enthalten die Wurzeln der *Albinae* noch etwas Reservestärke, wenn auch nicht in solchen Mengen wie die der grünen *Cephalanthera alba*. Wissenswert erscheint vor allem, ob die Wurzelpilze der blassen Pflanzen mit denen der grünen vollkommen identisch sind oder irgendwie, vielleicht gerade in der Fähigkeit der Substratausnützung, sich von den gewöhnlichen unterscheiden. Die exakte Analyse ist also noch nicht begonnen.

Die Auffindung blasser Blütenstengel bei *Cephalanthera* und *Epipactis* legt die Frage nahe, ob die Fähigkeit zu zeitweiliger holosaprophytischer Lebensweise auch bei den Normalformen zu finden ist. Was *C. alba* betrifft, so war sie in dem ungewöhnlich orchideenreichen Sommer 1936 in nächster Nähe von Jena in Menge in Blüte zu sehen an Stellen, wo ich sie früher nicht mit Bewußtsein gesehen hatte. Im Jahr 1937 waren dann, wenigstens zur Zeit der Fruchtreife, an diesen Stellen nicht einmal Blätter zu finden; ob die Pflanze im Frühjahr dagewesen war und früh eingezogen hatte, weiß ich nicht zu sagen, aber in Zukunft wird sie im Auge behalten. Ziegenspeck hat an Standorten, die durch Heranwachsen von Bäumen lichtarm wurden, ähnliches beobachtet und hält einen „Rückschritt zur Vollmykotrophie der Jugend" für sicher (S. 133). Auch für *Epipactis latifolia* gibt er an, daß Rhizome im tiefen Waldschatten keine Blütenstengel (ob überhaupt keine

beblätterten Sprosse?; R.) entwickeln. Im botanischen Garten in Jena blüht ein großer Stock von *Cephalanthera alba* Jahr für Jahr mit mehreren Blütenstengeln. Sollten die beiden Pflanzen normalerweise imstande sein, jahrelang ganz unterirdisch zu leben — wie es für den holosaprophytischen *Epipogon aphyllus* sicher ist —, so wäre es besonders leicht möglich, daß sie auch nach mutativem Chlorophyllverlust durch ausschließliche Mykotrophie genügend erstarken, um blühbare Stengel zu entwickeln.

Die beobachteten Albinoindividuen sind nun so, wie wir sie antreffen, sicher nicht imstande, konstante Rassen zu erzeugen. Die blassen Blätter und Brakteen leiden, wie von allen pigmentlos gewordenen Blattgebilden bekannt ist, im Licht sehr und beginnen schon zur Blütezeit abzusterben; wenn die Blätter auch keiner photosynthetischen Leistung mehr fähig sind, kann es der Pflanze doch nicht zuträglich sein, so früh zur partiellen Leiche zu werden. Außerdem ist es fraglich, ob die blassen Pflanzen ihre Blüten jemals bis zur Pollenreife bringen. Bemerkenswert ist, daß das Anthokyan in den Blattscheiden und in der Lippe des Perigons sich auch bei den Albinopflanzen der *Epipactis latifolia* ausbildet, bei der f. *rosea* der *E. violacea* sogar an allen Teilen des Blütenstengels (vgl. oben); die schon sehr kleinblätterige und von ihrem Pilz wohl sehr abhängig gewordene *Epipactis microphylla* und noch mehr das fast blattlose, sehr chlorophyllarme *Limodorum abortivum* sind ja ausgesprochen violett. Von unseren übrigen Holosaprophyten ist *Corallorrhiza innata* grünlichgelb, *Neottia nidus avis* gewöhnlich gelb bis braun; nur *Epipogon aphyllus* ist fast pigmentlos, lebt aber dafür auch an sehr schattigen Stellen.

Von *Neottia nidus avis* ist bekannt, daß sie in verschiedenen Farbvarietäten vorkommt (vgl. Ascherson u. Graebner, Bd. 3, S. 893f.; Hegi, Bd. 2, S. 389), nämlich schwefelgelb (f. *sulfurea*), hellgelb bis weißlich (f. *pallida*), und „schneeweiß" (f. *nivea*). Die Seltenheit der blassen Formen ist wieder ein Anzeichen dafür, daß sie gegenüber dem gelbbraunen Typus benachteiligt sind, trotzdem dieser schon recht wenig Chlorophyll besitzt und durch eigene Photosynthese nicht viel zu seiner Ernährung beiträgt. Ob f. *pallida* und f. *nivea* sich überhaupt noch durch Samen fortzupflanzen vermögen, müßte wohl noch geprüft werden. Es könnte sein, daß diese seltenen Rassen immer wieder aus der Normalform durch Mutation (im Genom oder im Plastidom) entstehen und als Einzelindividuen vergehen, wenn sie sich nicht auf vegetativem Weg erhalten, wie es bei *Neottia* aus Wurzelbrut ja leicht möglich ist. Daß bei einer schon so chlorophyllarmen und fast ganz heterotroph ge-

wordenen Pflanze, wie es *Neottia* ist, der völlige Chlorophyllverlust keine so tiefe Veränderung bedeutet wie bei *Cephalanthera* und bei *Epipactis latifolia*, ist freilich nicht zu bezweifeln.

Die mitgeteilten Erfahrungen zeigen, daß auch bei leistungsfähiger Mykorrhiza fortpflanzungsfähige holosaprophytische Sippen aus grünen nicht einfach durch mutativen Chlorophyllverlust hervorgehen können. Vorbedingung ist Verkleinerung der Blätter schon im grünen Zustand, wahrscheinlich auch eine gewisse Umformung des Wurzelsystems, und augenscheinlich darf der Pigmentverlust in den Plastiden nicht absolut sein. Geglückte Umformungen des autotroph-mykotrophen Systems zum holosaprophytischen Biotypus sind so komplex und so selten, daß wir sie nicht innerhalb der Grenzen der rezenten Arten auffinden, sondern nur als Nebenresultate weit zurückreichender Evolutionsvorgänge vor uns sehen, die zur Bildung weniger neuer Arten und Gattungen geführt haben. Jungen Datums dürfte die Entstehung der *Epipactis microphylla* sein, die etwa in der Mitte zwischen dem gewöhnlichen *Epipactis*-Typus und *Limodorum abortivum* steht. Daß die wurzellosen Rhizome von *Corallorrhiza* und *Epipogon* weit abgeleitete, erst nach Erwerbung der Vollmykotrophie entstandene Bildungen sind, braucht nicht betont zu werden. Allerdings können die Wurzeln an schlanken Rhizomen schon bei grünen Formen verlorengehen, wie das Beispiel der javanischen (am Gedeh häufigen) Gattung *Myrmechis* zeigt (Burgeff, 1932, S. 22 ff.; 1936, S. 111 ff.); unsere im Habitus sehr ähnliche *Goodyera repens* scheint mit ihren spärlichen Wurzeln auf dem Weg zu ähnlicher Gestaltung.

Wenn einerseits Holosaprophytismus nur bei den Neottieen, nicht bei den Ophrydeen vorkommt (*Corallorrhiza* steht für sich), und andererseits auch gelegentlicher völliger Chlorophyllverlust nur bei Neottieen, nicht bei Ophrydeen beobachtet wird, so ist dieses Zusammentreffen kaum Zufall. Auch bei Ophrydeen treten Chlorophylldefekte auf, wie die weißrandige *Gymnadenia* zeigt, aber völlig bleiche Individuen scheinen nicht lebensfähig zu sein, und deshalb haben sich in dieser Gruppe auch keine bleichen Arten bilden können.

Anhang: Über Chlorophylldefekte bei Hemiparasiten.

Wenn bleiche Individuen bei Mykotrophen lebensfähig sind, könnten sie es günstigenfalls auch bei Halbschmarotzern sein. Bis jetzt habe ich aber noch keinen solchen Fall beobachtet.

1. *Melampyrum*. Im Sommer 1936, der für die Keimung von Waldpflanzen aller Art ungewöhnlich günstig war, konnte ich bei Masserberg im Thüringer Wald *M. silvaticum* zu vielen Tausenden beobachten, ohne auffällig farblose Pflanzen zu

sehen. Bei sorgfältiger Untersuchung fand ich einmal ein halbes Dutzend Stengel, die weißfleckige Blätter besaßen; Albomaculatio scheint also vorzukommen. Im Frühjahr 1937 habe ich dann bei Blankenburg im Thüringer Wald das auch dort sehr häufige *M. silvaticum* von der Keimung an verfolgen können. Ein Keimling hatte gelbe Kotyledonen und ging wohl bald zugrunde. Trotz der ausgeprägt parasitischen Lebensweise (Heinricher 1909, z. B. S. 322; auch der nach des Autors Angabe häufigste Wirt, *Vaccinium myrtillus*, war immer in der nächsten Nähe in Menge anzutreffen) vermag die Pflanze also auf eigene Photosynthese nicht zu verzichten.

2. *Thesium.* Von *Th. montanum* brachte mir mein Schüler H. Schulle, der über die Entwicklungsgeschichte der Pflanze arbeitete, vom Hausberg bei Jena einen kräftigen Stock mit mehreren Stengeln, die unten grün, an der Spitze fast weiß waren und keine Blüten trugen. Dieselbe partielle Chlorose fand ich bei *Th. intermedium* (bei Masserberg im Thüringer Wald). Wahrscheinlich handelt es sich dabei um eine (durch einen Wurzelparasiten?) verursachte Ernährungsstörung, denn echte Panaschüre müßte anders aussehen. Ob gelegentlich chlorotische Keimlinge auftreten, ist nicht leicht zu prüfen, weil die Samen meist mangelhaft keimen. Es wäre zu verwundern, wenn Chlorophyllverlust hier nicht auch vorkäme. Aber wenn er ohne schweren Schaden ertragen würde, hätte ich bei Jena, wo *Thesium* häufig ist, wohl schon eine farblose Pflanze gefunden. Auch die *Synopsis* von Ascherson u. Graebner erwähnt keine derartigen Funde.

3. *Viscum album.* Nach v. Tubeuf (1923, S. 463) kommen gelbstreifige Blätter vor. Heinricher (1917, S. 832ff.) beschreibt gelbe Keimlinge mit gelbem statt grünem Hypokotyl. Ganz gelbe erwachsene Pflanzen werden nirgends angegeben, sind also wohl nicht lebensfähig, was bei der Art des Parasitismus ja nicht auffällig ist.

Literatur.

Ascherson, P., u. Graebner, P., Synopsis der mitteleuropäischen Flora. 3. Bd., Leipzig 1905—1907. — Burgeff, H., Die Wurzelpilze der Orchideen. Jena 1909. — Ders., Saprophytismus und Symbiose. Studien an tropischen Orchideen. Jena 1932. — Ders., Samenkeimung der Orchideen und Entwicklung ihrer Keimpflanzen. Jena 1936. — Hegi, G., Illustrierte Flora von Mitteldeutschland. 2. Bd. München o. J. — Heinricher, E., Über tötende Wirkung des Mistelschleims auf das Zellgewebe von Blättern und Sprossen. Sitzungsber. K. Ak. d. Wiss. Wien, Math.-Naturw. Kl., Abt. I, **126,** 815—836 (1917). — Keller, G., u. Schlechter, R., Monographie und Iconographie der Orchideen Europas und des Mittelmeergebietes. Bd. I., Dahlem b. Berlin 1925—1928. — Renner, O., Zur Kenntnis der nichtmendelnden Buntheit der Laubblätter. Flora **130,** 218—290 (1936). — Schulze, M., Die Orchidaceen Deutschlands, Deutsch-Österreichs und der Schweiz. Gera 1894. — Tubeuf, K. Frh. v., Monographie der Mistel. München u. Berlin 1923. — Ziegenspeck, H., Orchidaceae, in: Kirchner, Loew, Schroeter, Wangerin, Lebensgeschichte der Blütenpflanzen Mitteleuropas. Bd. I, Abt. 4. Stuttgart 1936.

Elektive Färbung der Hydropoten an fixierten Wasserpflanzen.

Ein Beitrag zur protoplasmatischen Anatomie fixierter Gewebe.

Von **Horst Drawert.**

(Aus der Botanischen Anstalt der Universität Jena.)

Mit 18 Abbildungen im Text.

I. Einleitung.

An der Oberfläche der Blätter und Stengel vieler Wasserpflanzen befinden sich morphologisch ausgezeichnete Zellen und Zellgruppen, die zuerst von Perrot (1897 und 1899) bei *Limnanthemum* und *Villarsia* beschrieben worden sind. Mayr (1915), der diese Zellgruppen bei einer großen Anzahl von Wasser- und Sumpfpflanzen genauer untersucht hat, bezeichnet sie als „Hydropoten". Nach seiner Auffassung soll es sich hier also um Organe handeln, die befähigt sind, Wasser und Salzlösungen aufzunehmen. Die Kutikula der Hydropotenzellen unterscheidet sich morphologisch kaum von der der anderen Epidermiszellen, aber physikalisch und chemisch ist ein großer Unterschied vorhanden. So ist die Hydropotenkutikula besonders leicht permeabel für Farbstoffe: Von jeder lebenden, ausgewachsenen Hydropotenzelle wird durch die unverletzte Kutikula hindurch der Farbstoff in die inneren Zellwände aufgenommen (Mayr, S. 349). Mit Sudan III färbt sich die Kutikula der Hydropoten nicht hochrot, wie die der normalen Epidermiszellen, sondern nur orange. Über weitere chemische Besonderheiten siehe Mayr.

Die Auffassung Mayrs, daß die Hydropoten der Wasseraufnahme dienen, ist nicht unwidersprochen geblieben. Vor allem setzt sich Riede (1921) dafür ein, daß es sich hier nicht um aufnehmende Organe, sondern um abgebende, also Exkretionsorgane, handelt. Demnach wäre auch die Bezeichnung Hydropoten unzulässig, da wir es hier nach der Meinung von Riede eher mit Hydathoden zu tun haben. Auch Heil (1929) tritt für diese Auffassung Riedes ein.

Gicklhorn (1927) konnte mit seinen Versuchen über die Aufnahme von Mangan- und Eisensalzen durch die Membrankuppen und

die Blattzähne von *Helodea canadensis* wohl einwandfrei beweisen, daß die Hydropoten tatsächlich in erster Linie stoffaufnehmende Organe sind, und damit trifft in gewissem Sinne die Bezeichnung Hydropoten für diese Organe wohl zu. Riede gelang es dagegen nicht, durch einwandfreie Beweise seine Deutung der Hydropoten als wasserausscheidende Organe zu belegen.

Auf Grund der Befunde Gicklhorns hält auch Linsbauer (1930, S. 174) die Auffassung von Mayr, daß die Hydropoten Absorptionsorgane sind, für berechtigt. Gessner (1933) faßt die Hydropoten als „Anionenfänger" auf und betont, daß sie wohl als Absorptionsorgane für Nährstoffe in Frage kommen, ohne daß damit eine Wasseraufnahme verbunden sein muß, da die Nährsalze den submersen Pflanzen im umgebenden Wasser schon in ionisierter Form zur Verfügung stehen. Weiter tritt F. J. Meyer (1935) ganz entschieden für die Annahme Mayrs ein. Auch Strugger (1935, S. 120) vertritt die Auffassung Mayrs und bestätigt durch elektive Vitalfärbung der Hydropoten mit basischen Farbstoffen (Fig. 73—75) ihre stoffaufnehmende Eigenschaft.

Grüß (1927) beschreibt für die *Nymphaeaceen*, die nach Mayr und Riede hydropotenfrei sein sollen, Organe, die er als Haustoren bezeichnet. Diese Haustoren entsprechen vollkommen den von Mayr an anderen Pflanzen beschriebenen Hydropoten, so daß damit auch für die *Nymphaeaceen* das Vorhandensein von Hydropoten bewiesen sein dürfte.

Mayr (1915) führte seine Untersuchungen in der Hauptsache an lebendem Material durch. Er benutzte aber auch totes Gewebe, so schreibt er auf S. 350: „Soweit möglich, wurden lebende Pflanzen zum Versuche verwendet und nur im Notfalle Alkohol- oder Herbarmaterial, welches übrigens bei vorsichtiger Handhabung ebenfalls ganz sichere Resultate liefert". Im Anschluß an meine Befunde am fixierten *Helodea*-Blatt (Drawert 1937c) untersuchte ich in der vorliegenden Arbeit eingehend das Verhalten der Hydropoten toter Wasserpflanzen gegenüber Farbstoffen. Es soll damit ein weiterer Beitrag geliefert werden zu der Frage: Wieweit läßt sich das an der lebenden Pflanze gefundene unterschiedliche Verhalten einzelner Zellen und Gewebe noch an der toten Pflanze nachweisen. Ich glaube, daß ein paralleles Untersuchen der lebenden und der toten Pflanze mit den verschiedensten Methoden uns nicht nur Aufschluß gibt, wieweit eine „physiologische Ungleichheit bei morphologischer Gleichheit" (Weber 1925) eine rein vitale Eigenschaft der Pflanze ist oder es nicht ist, sondern uns auch sicher die Erklärung dieser Erscheinungen erleichtert. Durch ein Hand-in-Hand-

Gehen der Lebendzytologie und der Fixierungszytologie wird sich mancher Irrweg, den man bei einseitiger Betrachtungsweise vielleicht begehen wird, vermeiden lassen.

Bei der Mitteilung der Versuchsergebnisse will ich außer auf die Befunde an den Hydropoten auch an einigen Stellen auf das Verhalten anderer Zellen und Gewebe gegenüber den Farbstoffen eingehen, um damit das besondere Verhalten der Hydropoten noch hervorzuheben.

II. Methodik.

Die ausgewachsenen Blätter und Stengel der Wasserpflanzen wurden in 70%igem Alkohol fixiert. Die ganzen Blätter und Stengel bzw. bei großen Objekten Stücke derselben wurden in Schälchen mit Farbstofflösungen 1:10000 mit verschiedener C_H übertragen. Als Puffergemische benutzte ich nur konzentriertere Lösungen, wie ich sie schon früher (1937a, S. 92, Tab. 1) beschrieben habe. Die pH-Werte wurden mit der Wasserstoffelektrode bestimmt. Als Farbstoff diente in den meisten Versuchen das Toluidinblau. Zu Vergleichszwecken benutzte ich auch noch Neutralrot, Methylviolett, Säurefuchsin und Rhodamin B. Um schnell elektive Färbungen der Hydropoten an dem in Alkohol fixierten Material zu erlangen, reicht gewöhnlich der Aziditätsgrad einer in dest. Wasser gelösten Toluidinblaulösung aus. Nach einem Verweilen der Blätter von 1—2 Min. in der Farbstofflösung haben in den meisten Fällen auch am fixierten Material die Hydropoten den Farbstoff deutlich gespeichert. Bei sämtlichen wiedergegebenen Mikroaufnahmen wurde das Lifa-Grünfilter Nr. 200b benutzt. Die Aufnahmen wurden nur an ganzen Blättern bzw. Sproßachsen gemacht, nie an Schnitten.

III. Versuchsergebnisse.

1. *Ceratopteris thalictroides.*

Bei *Ceratopteris thalictroides* sind die Epidermiszellen der Schwimmblätter auf der Blattunter- und der Blattoberseite ganz gleichmäßig gebaut, so daß morphologisch betrachtet zwischen den einzelnen Zellen kein Unterschied zu bemerken ist. Legt man aber die in Alkohol fixierten Blätter in eine Toluidinblaulösung, so tritt deutlich eine physiologische Differenzierung auf, und zwar zeigen auf der Blattunterseite von der Basis bis zur Spitze ein Teil der Zellen eine ausgeprägte Membrankuppenfärbung, wie Fig. 1 wiedergibt (vgl. auch Gicklhorn 1927, Taf. VIII, Fig. 2 und Taf. X, Fig. 23). Diese einzelnen Zellen verhalten sich also genau so, wie sämtliche Zellen der Blattoberseite von *Helodea* mit Ausnahme der Mittelrippe und des Blattrandes (vgl. Drawert 1937 c). Am deutlichsten tritt das besondere Verhalten dieser ausgezeichneten Zellen bei sehr hoher C_H der Farblösungen auf, da zwischen pH 2,3—3,0 nur die Membrankuppen gefärbt sind, während die Membranen der anderen Epidermiszellen und der Zellinhalt bei dieser C_H noch keinen Farbstoff aufnehmen.

Auf der Blattoberseite findet man diese besonderen Zellen nur an der Blattbasis, da ja nur an diesem Blattende auch die Oberseite unter Wasser liegt. Von der Austrittsstelle der Blattoberseite aus dem Wasser bis zur Blattspitze zeigen kaum noch einzelne Zellen die ausgeprägte Membrankuppenfärbung. Dafür nehmen aber die Spaltöffnungen an Anzahl bedeutend zu.

Ich glaube, es ist wohl berechtigt daraus, daß die Zellen mit ausgeprägter Membrankuppenfärbung nur an den Blatteilen auftreten, die in dauernder Berührung mit dem Wasser sind, zu schließen, daß es sich hier um Hydropoten handelt. Dafür spricht auch die Paral-

Fig. 1. Elektive Färbung der Hydropoten in der Blattunterseite von *Ceratopteris thalictroides*. Vergr. 75mal.

Fig. 2. Elektive Färbung der Schließzellen in der Blattoberseite von *Ceratopteris thalictroides* mit Toluidinblau bei pH 5,21. Vergr. 400mal.

lelität des Verhaltens mit den Zellen der Blattoberseite von *Helodea* und die Parallelität zwischen der Membrankuppenfärbung am fixierten Blatt und der Manganablagerung am lebenden Blatt (vgl. Gicklhorn 1927, Taf. VIII, Fig. 2 und Taf. X, Fig. 23).

Von pH 3,3 an färben sich auf der Blattoberseite elektiv die Membranen der Schließzellen. Bei noch niedrigerer C_H kommt dazu noch eine intensive Farbstoffspeicherung, in den Schließzellenkernen, so daß sich, wie Fig. 2 zeigt, die Schließzellen durch ihre starke Färbung deutlich von den anderen Epidermiszellen abheben.

Linsbauer (1927) und Weber (1927) beschreiben auch für die lebenden pflanzlichen Gewebe eine elektive Färbung der Schließzellen mit Neutralrot (vgl. Weber 1927, S. 584, Fig. 1 und Strugger 1935 S. 80, Fig. 50 u. 51). Die elektive Färbung am lebenden und am

toten Gewebe unterscheidet sich aber durch den Ort der Farbstoffspeicherung. Während in den Vitalfärbungsversuchen die Schließzellen z. B. von *Zebrina pendula* den Farbstoff nur in der Vakuole speichern, nehmen in meinen Versuchen mit fixierten *Ceratopteris*-Blättern die Membranen und die Kerne den Farbstoff auf.

Außer den Hydropoten und den Schließzellen speichern auch noch die Tracheiden (Fig. 3) und das Schwammparenchym (Fig. 4) der fixierten Blätter von *Ceratopteris* vor allem um pH 4,5 das Toluidinblau. Bei der elektiven Färbung der Schwammparenchymzellen handelt es sich

Fig. 3. Elektive Färbung der Tracheïden im Schwimmblatt von *Ceratopteris thalictroides* mit Toluidinblau bei pH 4,38. Vergr. 75 mal.

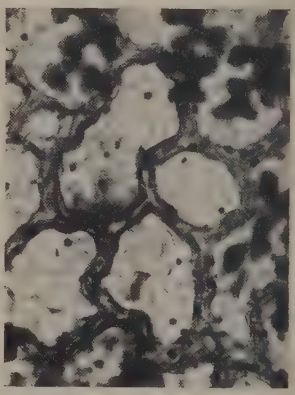


Fig. 4. Elektive Färbung des Schwammparenchyms im Schwimmblatte von *Ceratopteris thalictroides* mit Toluidinblau bei pH 4,38. Vergr. 75 mal.

hier nicht um eine chemische Bindung des Farbstoffes an Gerbstoffe, wie etwa bei *Impatiens parviflora* (vgl. Strugger 1935, S. 77, Fig. 46); denn mit Kaliumbichromat konnte in den Zellen kein Gerbstoff nachgewiesen werden.

2. *Salvinia auriculata.*

Von *Salvinia natans* gibt Mayr (1935, S. 367) an, daß die Haare aller submersen Teile Hydropotencharakter besitzen. Wie Fig. 5 belegt färben sich auch am fixierten Material von *Salvinia auriculata* die Haare an der Unterseite der Schwimmblätter sehr intensiv. Genau so verhalten sich die Haare der submersen Blätter.

Wie Herzog (1934) von einer Anzahl tropischer *Salvinia*-Arten berichtet, besitzen diese auf der Blattunterseite eine Anzahl mehr oder

weniger runde Zellen (vgl. Herzog S. 498, Fig. 5), die Hydropotencharakter besitzen sollen. Sehr aufschlußreich ist auch die Anordnung dieser Hydropotenzellen: „Die Verteilung der Hydropotenzellen ist keine regellose, vielmehr liegen sie in der Epidermis nur an den Stellen wo die vertikalen Zellplatten mit der unteren Epidermis zusammenstoßen." Mit den vertikalen Zellplatten sind die eine Luftkammer umgebenden Zellen gemeint. Legt man frische Blätter von *Salvinia auriculata* in verdünnte Methylviolettlösung, so zeigen die Hydropotenzellen nach wenigen Minuten eine violette Färbung, während die Um-

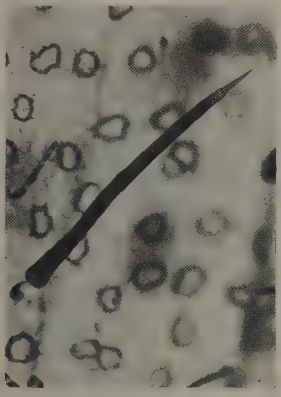


Fig. 5. Elektiv gefärbtes Borstenhaar (Hydropote) an der Blattunterseite des Schwimmblattes von *Salvinia auriculata*. Vergr. 75 mal.

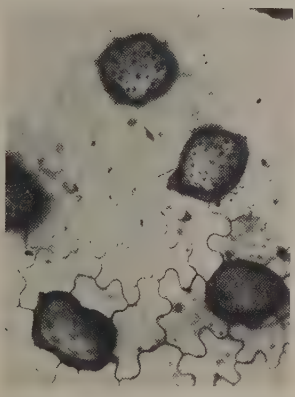


Fig. 6. Elektiv gefärbte Hydropoten in der Epidermis der Blattunterseite von *Salvinia auriculata*. Vergr. 190 mal.

gebung noch ungefärbt bleibt. Erst nach mehrstündiger Einwirkung dringt die Farblösung auch in die angrenzenden Epidermiszellen ein. Saure Farbstoffe werden von den Hydropotenzellen nicht aufgenommen.

An fixierten Blättern von *Salvinia auriculata* konnte ich diese Angaben von Herzog alle bestätigen. Die Hydropoten zeigen auch am toten Blatt gegenüber Farbstoffen dasselbe Verhalten wie an der lebenden Pflanze (Fig. 5 und 6). Aus den Hydropoten wandert am toten Objekt der Farbstoff in erster Linie in die darunterliegenden vertikalen Zellplatten (vgl. auch die elektive Färbung des Schwammparenchyms von *Ceratopteris* in Fig. 4).

Während die Unterseite der Schwimmblätter mehr die runden Hydropoten besitzt, weisen die submersen Blätter eine viel größere Anzahl Haarhydropoten auf. Hier treten die runden Hydropotenzellen nur vereinzelt auf.

3. *Sagittaria sagittifolia.*

Die Hydropoten sind hier von Mayr an den verschiedensten Pflanzenteilen sehr genau untersucht worden. Ich färbte am toten Material die Blätter mit Toluidinblau. Dabei speicherten die Hydropoten zunächst den Farbstoff in den Membranen in einer Verteilung, wie sie Fig. 7 wiedergibt. Nimmt man die Blätter nach kurzer Zeit aus der Farblösung heraus und überträgt sie in eine farblose Pufferlösung mit entsprechender C_H oder auch in Leitungswasser, so entfärben sich die Membranen und die Membrankuppen der Hydropotenzellen sehr schnell. Bei hoher C_H speichern die Membranen der anstoßenden Epidermiszellen den austretenden Farbstoff. Bei niedrigerer C_H z. B. im Leitungswasser nehmen dagegen das Zytoplasma und die Plastiden der Hydropotenzellen selber und auch der umliegenden Epidermiszellen den aus den Membrankuppen austretenden Farbstoff auf (Fig. 8). Überträgt man jetzt dasselbe Blatt wieder zurück in die Farblösung

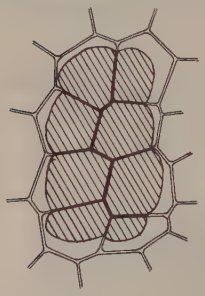


Fig. 7. Membran- und Membrankuppenfärbung in den Hydropoten der Blattunterseite von *Sagittaria sagittifolia*. Mit dem Zeichenapparat wiedergegeben.

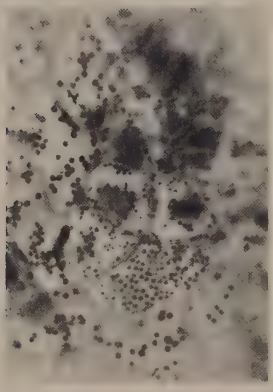


Fig. 8. Blatt von *Sagittaria sagittifolia* nach der Färbung der Membrankuppen der Hydropoten (vgl. Fig. 7) in ein farbloses Medium übertragen: Farbstoff wandert aus den Membrankuppen in die Plastiden und das Zytoplasma der Hydropotenzellen und der angrenzenden Epidermiszellen. Vergr. 400 mal.

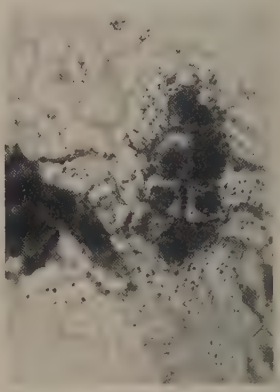


Fig. 9. Zu dem Blatt von *Sagittaria sagittifolia* aus Fig. 8 wieder etwas Farblösung zugegeben: Die Membrankuppen sowie die Quermembranen (vgl. Fig. 7) der Hydropotenzellen speichern erneut den Farbstoff. Vergr. 320 mal.

oder saugt man zwischen Objektträger und Deckglas Farblösung hindurch, so färben sich sofort wieder die Membrankuppen und die Quermembranen der Hydropotenzellen (Fig. 9).

4. *Potamogeton densus, P. pectinatus, P. obtusifolius.*

Mayr beschreibt von *Potamogeton natans*, daß die Epidermen der Unterseite der Schwimmblätter und des Blattstieles nur aus Hydropotenzellen bestehen. An den von mir untersuchten submersen Arten konnte ich morphologisch keine Hydropoten wahrnehmen. In der Farblösung bleiben die Blattoberseiten vollkommen farblos, während die Blattunterseiten den Farbstoff in ganz eigenartiger Weise aufnehmen.

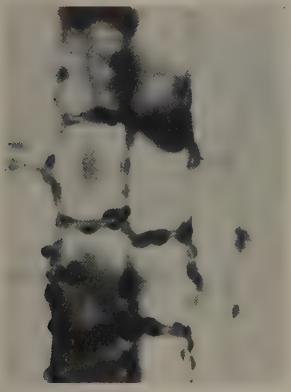


Fig. 10. Membrankuppenfärbung und unregelmäßig gefärbte Außenmembranen an der Blattunterseite von *Potamogeton densus*. Vergr. 400 mal.

Fig. 11. Zurückgehen der unregelmäßig geformten Färbung der Außen- und der Quermembranen bei *Potamogeton densus* und Speicherung des Farbstoffes in den Plastiden und dem Zytoplasma der darunterliegenden und der angrenzenden Zellen (vgl. auch Fig. 8). Vergr. 400 mal.

Hin und wieder zeigen wohl einige Zellen eine ausgeprägte Membrankuppenfärbung (Fig. 10), aber im allgemeinen speichern die Außenmembranen den Farbstoff in kleineren oder größeren unregelmäßigen Feldern. Diese Membranfelder verhalten sich aber gegenüber dem Farbstoff genau so wie die Membrankuppen etwa bei *Sagittaria*, d. h. nach Entfernung der Farbstofflösung entfärben sich die Außenmembranen ziemlich rasch und das Zytoplasma, die Plastiden und die Quermembranen der darunter- und der umliegenden Zellen speichern den Farbstoff (Fig. 11). Ich glaube wohl berechtigt zu sein, aus diesem Verhalten zu schließen, daß diese unregelmäßigen Membranfelder, die nur an der

Blattunterseite auftreten, Hydropotenfunktion ausüben. Wir hätten hier also morphologisch betrachtet, einen ganz primitiven Fall der Hydropoten vor uns.

5. *Zostera marina.*

Von *Zostera marina* stand mir Material aus Hiddensee zur Verfügung[1]). Schönleber (1937) berichtet eingehend über das Auftreten von Manganniederschlägen auf den Blättern von *Zostera*: „Die Randzonen wie die Mittellinie sind bei *Zostera* besonders niederschlagsreich; ...". An dem fixierten Material kann man auch vor allem in den Randzonen eine Membrankuppenfärbung beobachten, die allerdings nicht so ausgeprägt ist wie etwa die von *Helodea* (vgl. Drawert 1937, S. 210, 11, Fig. 4 und 5). Im allgemeinen entsprechen hier die Hydropoten sehr dem *Potamogeton*-Typus, wie es ja der verwandtschaftlichen Beziehung nach auch zu erwarten ist.

Fig. 12. Elektive Färbung der Hydropoten auf der Blattunterseite von *Aponogeton distachyus*. Vergr. 75 mal.

6. *Aponogeton distachyus.*

Sehr deutlich heben sich nach der Färbung mit Toluidinblau auch die Hydropoten auf der Blattunterseite der Schwimmblätter von *Aponogeton distachyus* ab. Hier färben sich außer den Membrankuppen vor allem auch die Quer- und Längswände der Hydropotenzellen sehr stark (Fig. 12, vgl. auch Mayr 1915, S. 306, Fig. 5 von *Aponogeton ulvaceus*).

7. *Helodea canadensis, H. densa.*

Über das Verhalten der fixierten Blätter von *Helodea canadensis* gegenüber basischen Farbstoffen habe ich schon früher berichtet (Drawert, 1937c), so daß ich hier nur kurz darauf einzugehen brauche. Auch am fixierten Blatt von *Helodea canadensis* zeigen entsprechend den Befunden von Gicklhorn (1927) am lebenden Blatt, die Blattzähne und die Membrankuppen der Oberseite Hydropotencharakter (vgl. Drawert, 1937c, S. 210 u. f., Fig. 3—5 u. 7). An den Membrankuppen von *Helodea canadensis* und *H. densa* kann man wieder sehr gut die nur

1) Herrn Dr. H. U. Amlong (Greifswald) möchte ich auch an dieser Stelle für die Besorgung des Materials danken.

vorübergehende Anfärbung der Außenmembran beobachten, die hier nach der Entfernung der Farblösung in sehr kurzer Zeit einer Färbung der Quer- und Längswände, bzw. der Plastiden und des Zytoplasmas der Epidermiszellen Platz macht. Behandelt man darauf die Blätter auf dieselbe Art, wie ich es schon weiter oben für *Sagittaria* beschrieben habe, von neuem mit Farblösung, so färben sich die Membrankuppen sofort wieder sehr intensiv.

In dem Verhalten der Blattzähne besteht zwischen *Helodea canadensis* und *H. densa* ein großer Unterschied. Wie ich früher beschrieb (1937c, S. 219), sind die Blattzähne von *Helodea canadensis* im allgemeinen sehr stark und über einen großen pH-Bereich gefärbt, ausgenommen nach längerem Aufenthalt der Blätter in Chrom-Essigsäure (vgl. 1937c, S. 218, Fig. 12b). Das trifft aber nicht für *Helodea densa* zu; denn hier sind auch am alkoholfixierten Material die Blattzähne nur im stark sauren Gebiet gefärbt, während sie im ganzen anderen pH-Bereich farblos bleiben. *Helodea densa* verhält sich in diesem Falle genau so wie die weiter unten beschriebene *Hydrilla verticillata* (vgl. Fig. 13 u. 14). Wie überhaupt in dem ganzen Verhalten in der Farbstoffspeicherung und -Verteilung das Blatt von *Helodea densa* viel mehr verwandtschaftliche Beziehungen zu *Hydrilla verticillata* aufweist als zu *Helodea canadensis*. In dem anatomischen Bau z. B. der Randzellen ist das auch der Fall (Solereder, 1913). Im polarisierten Licht weisen die Randzellen von *Helodea canadensis* eine starke Doppelbrechnung auf (vgl. Drawert, 1937c, S. 217, Fig. 10), das ist aber nicht bei *Helodea densa* und *Hydrilla verticillata* der Fall.

8. *Hydrilla verticillata.*

Hydrilla verticillata, die Mayr (1915, S. 368) ebenso wie *Helodea canadensis* zu den hydropotenfreien Pflanzen zählt („Organe, die sich schon morphologisch als Hydropoten kennzeichnen, fehlen nach Solereder überhaupt in der ganzen Familie"), zeigt auch im fixierten Material eine ausgeprägte Membrankuppenfärbung auf der Blattoberseite. Man erhält dasselbe Bild wie bei *Helodea canadensis* (vgl. Drawert, 1937c, S. 210, 11, Fig. 4 u. 5). Es ist hier allerdings nicht leicht, den Hydropotencharakter der Membrankuppen festzustellen, da ja eine morphologisch sichtbare Differenzierung fehlt und die Membrankuppenfärbung nach der Übertragung des Blattes aus der Farblösung auf den Objektträger, jedenfalls bei dem in Alkohol fixierten Material, sehr rasch verschwindet. Man kann sie für längere Zeit erhalten, wenn man die Blätter in einem Tropfen Farblösung beobachtet, dann

verschwindet die Membrankuppenfärbung erst, wenn aus der umgebenden Flüssigkeit der gesamte Farbstoff aufgenommen und von den Quer- und Längswänden, bzw. den Plastiden und dem Zytoplasma, gespeichert ist.

Die Blattzähne von *Hydrilla* verhalten sich in der Farbstoffspeicherung aber ganz anders als die von *Helodea canadensis* (s. weiter oben). Von pH 2,0—4,0 sind die Membranen der Blattzähne von *Hydrilla* sehr stark gefärbt, während die Membranen der übrigen Zellen gar keine oder nur sehr schwache (Randzellen) Färbung zeigen (Fig. 13). Von pH 3,0—4,0 nimmt die Intensität der Färbung in den Zähnen ab und in den Membranen der übrigen Zellen zu. Über pH 4,0 sind dann die

Fig. 13. Elektive Färbung der Blattzähne von *Hydrilla verticillata* mit Toluidinblau bei pH 2,29. Vergr. 190mal.

Fig. 14. Speicherung des Farbstoffes in den Membranen des Blattes von *Hydrilla verticillata* mit Ausnahme der Blattzähne. Toluidinblau bei pH 5,21. Verg. 190mal.

Blattzähne vollkommen farblos und die anderen Epidermiszellen weisen eine sehr starke Färbung der Längs-, Quer- und Außenmembranen auf, wie Fig. 14 für pH 5,21 belegt.

Aus diesem Verhalten der Blattzähne von *Hydrilla* und *Helodea densa* glaube ich schließen zu können, daß hier den Blattzähnen nicht, wie bei *Helodea canadensis* (Gicklhorn, 1927), eine Hydropotenfunktion zukommt. Das gemeinsame Kennzeichen aller von mir am fixierten Material untersuchten Hydropotenzellen ist die über einen sehr großen pH-Bereich reichende Fähigkeit der Farbstoffaufnahme, wie es für die Blattzähne von *Helodea canadensis* auch zutrifft, aber nicht für die von *Hydrilla verticillata* und *Helodea densa*.

9. *Vallisneria spiralis.*

Auch *Vallisneria spiralis* gehört nach Mayr zu den hydropotenfreien Wasserpflanzen (*Hydrocharitaceae*). Aber auch hier konnte ich am fixierten Material eine ausgeprägte Membrankuppenfärbung beobachten und zwar vor allem in der Nähe des Blattrandes. Bei *V. spiralis* zeigen im Gegensatz zu *Helodea* und *Hydrilla* beide Blattseiten die Membrankuppenfärbung. An lebenden Blättern von *V. spiralis* erhielt auch Rudolph (1925) eine ähnliche Membrankuppenfärbung mit Berliner Blau (vgl. S. 66, Fig. 4).

10. *Trianea bogotensis.*

Aus der Familie der *Hydrocharitaceae* untersuchte ich dann noch *Trianea bogotensis*, von der bis jetzt auch noch keine Hydropoten bekannt waren. Zur Untersuchung benutzte ich außer dem in Alkohol fixierten Material auch lebende Blätter.

Läßt man die durch die zahlreichen Luftkammern stark aufgeblähten Blätter auf der Farblösung schwimmen, so zeigt die Epidermis der Blattunterseite nach wenigen Minuten eine sehr gute Membrankuppenfärbung. Die Färbung ist nun aber nicht gleichmäßig über sämtliche Epidermiszellen verteilt, sondern zeigt ein ganz gesetzmäßiges Bild. Es sind nur die Kuppen der über den Luftkammern liegenden Epidermiszellen gefärbt. Die Epidermiszellen, unter denen sich die Kammerzellen befinden, speichern dagegen keinen Farbstoff, so daß schon rein makroskopisch die gefärbte Blattunterseite von *Trianea* wie eine Bienenwabe aussieht. Man kann gewissermaßen die über einer Luftkammer sich befindenden Epidermiszellen in ihrer Gesamtheit als eine große Hydropote auffassen. Es liegen hier also in der Anordnung der Hydropoten zu den Kammerzellen die entgegengesetzten Verhältnisse vor wie bei *Salvinia*, wo die Hydropotenzellen gerade in den Teilen der Epidermis liegen, die an die vertikalen Zellplatten anstoßen (vgl. Herzog 1934, S. 498, Fig. 5). In der Wanderungsrichtung des Farbstoffes stimmen aber beide Pflanzen überein. Nach der Übertragung in farbloses Wasser wandert der Farbstoff bei *Salvinia* wie auch bei *Trianea* aus den Hydropoten in die vertikalen Zellplatten, die die Luftkammern umgeben (vgl. auch *Ceratopteris* auf S. 238, Fig. 4).

Trianea bogotensis nimmt demnach also nicht nur mit den Wurzeln Nährstoffe auf, sondern wahrscheinlich auch mit der Epidermis der Blattunterseite. Auch bei diesem Objekt konnte ich gegenüber den

Farbstoffen das vollkommen gleiche Verhalten der lebenden und der in Alkohol fixierten Blätter beobachten. Ein Unterschied besteht nur darin, daß bei der entsprechenden C_H vor allem der aus den Hydropoten weiter wandernde Farbstoff in der lebenden Pflanze von der Vakuole der Zellen gespeichert wird, während bei der fixierten Pflanze das Zytoplasma, die Plastiden und auch der Kern diese Speicherungsfunktion übernehmen. Ich sehe darin aber keinen prinzipiellen Unterschied; denn die Farbstoffaufnahme und Weiterleitung ist in beiden Fällen dieselbe, nur daß nach der Zerstörung der Vakuole und der Plasmagrenzschichten im fixierten Material das Protoplasma die Aufgabe der Vakuole übernimmt. Im niederen pH-Bereich, also unter den isoelektrischen Punkten des Protoplasten, fällt aber auch dieser Unterschied fort, da jetzt in beiden Fällen nur die Membranen für die Aufnahme und auch für die Weiterleitung in Frage kommen.

Die Familie der *Hydrocharitaceae* zeigt also, wie die Untersuchungen ergeben haben, wohl keine morphologisch ausgeprägten Hydropoten, aber physiologisch sind sie vorhanden. Das gemeinsame Merkmal der untersuchten *Hydrocharitaceen* ist die ausgeprägte Membrankuppenfärbung. Da die Membrankuppenfärbung aber nur bei einem Teil der morphologisch vollkommen gleichgestalteten Epidermiszellen auftritt, ist dies ein Beweis für die Berechtigung des von der protoplasmatischen Pflanzenanatomie aufgestellten Satzes: „Physiologische Ungleichheit bei morphologischer Gleichheit" (Weber 1925).

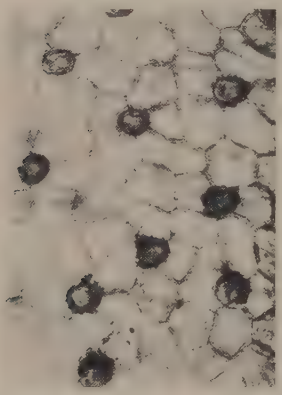


Fig. 15. Elektive Färbung der Hydropoten an der Blattunterseite von *Nuphar luteum*. Vergr. 190 mal.

11. *Nuphar luteum*, *Nymphaea* spec.

Von den *Nymphaeaceen* schreibt Mayr (1915, S. 369): „Hydropotenähnliche Organe scheinen in der ganzen Familie zu fehlen". Grüß (1927a, b) hat dann aber auch für die *Nymphaeaceen* das Vorhandensein von Haustoren (Hydropoten) nachgewiesen. Ich konnte am fixierten Material von *Nuphar luteum* und *Nymphaea spec.* die Angaben von Grüß voll bestätigen. Auch hier zeichnen sich die Hydropoten durch die intensive Farbstoffaufnahme aus (Fig. 15).

12. *Myriophyllum spicatum.*

Fig. 16 gibt die elektiv gefärbten runden Hydropoten der Sproßachse von *Myriophyllum spicatum* wieder. Die Epidermiszellen der Blätter weisen eine ausgeprägte Membrankuppenfärbung auf.

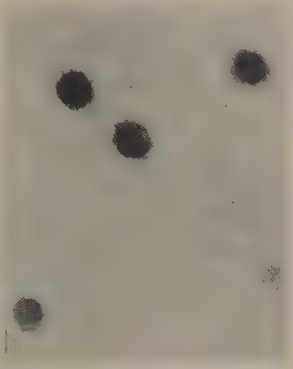


Fig. 16. Elektive Färbung der Hydropoten an der Sproßachse von *Myriophyllum spicatum*. Verg. 75 mal.

13. *Ceratophyllum demersum.*

Im Gegensatz zu *Myriophyllum spicatum* besitzen die Sproßachsen von *Ceratophyllum* keine Hydropoten. Hier zeigen nur die Blätter eine sehr gute Membrankuppenfärbung. Für *Myriophyllum* und *Ceratophyllum* treffen also die Angaben von Mayr, daß diese Pflanzen mit ihrer ganzen Blattoberfläche befähigt sind, Wasser bzw. Nährstoffe aufzunehmen vollkommen zu.

14. *Vriesea psittacina.*

Viele *Bromeliaceen* besitzen in ihren Saugschuppen den Hydropoten der Wasserpflanzen analoge Organe. Strugger (1935) beschreibt eine Elektivfärbung der Saugschuppen am lebenden Blatt von *Vriesea splendens* mit Neutralrot und Cresylechtviolett. Am lebenden Gewebe verhalten sich also die Saugschuppen der *Vriesea* und die Hydropoten der

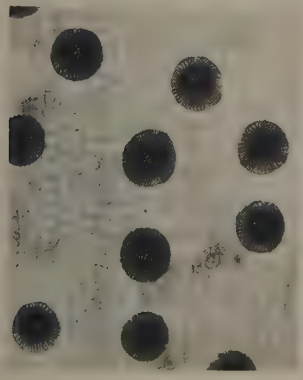


Fig. 17. Elektive Färbung der Saugschuppen auf den Blättern von *Vriesea psittacina*. Vergr. 75 mal.

Fig. 18. Elektive Färbung der Saugschuppen auf den Blättern von *Vriesea psittacina*. In den Randzellen sind die Membranen gefärbt, in den Mittelzellen das Protoplasma. Vergr. 400 mal.

Wasserpflanzen gegenüber basischen Farbstoffen gleichsinnig. Ich untersuchte nun das Verhalten der in Alkohol fixierten Blätter von *Vriesea psittacina* gegen Toluidinblau. Wie Fig. 17 und 18 belegen, speichern hier nur die Saugschuppen den Farbstoff. Man erhält also am toten Material das gleiche Bild wie an der lebenden Pflanze (vgl. Strugger 1935, S. 123, Fig. 76).

IV. Besprechung der Ergebnisse.

Wie meine Versuchsergebnisse wohl einwandfrei ergeben, lassen sich auch am fixierten Material noch physiologische Unterschiede der Gewebe und Zellen nachweisen (vgl. auch Drawert 1937c). Ich glaube also berechtigt zu sein, den von Weber für die Untersuchung der lebenden Pflanze als Grundsatz aufgestellten Satz: „Physiologische Ungleichheit bei morphologischer Gleichheit" auch für die Untersuchung der toten Pflanze als Ausgangspunkt zu nehmen und von einer protoplasmatischen Anatomie der fixierten Pflanze zu sprechen.

Auch am fixierten Material erweisen sich die Hydropoten gegenüber den Farbstoffen als Aufnahmeorgane, so daß die Auffassung von Mayr wohl zutreffender ist als die von Riede und Heil. Daß es sich um stoffaufnehmende Organe handelt, geht auch aus meinen früheren Angaben bei *Helodea* hervor (Drawert 1937b, S. 385). Hier konnte ich beobachten, daß aus einer 1 mol. $CaCl_2$-Lösung + Neutralrot die lebenden Blätter von *Helodea canadensis* in den Epidermiszellen der Blattoberseite das Neutralrot dicht unter den Membrankuppen in Ringform speicherten.

Ob es sich hier aber tatsächlich um „Wassertrinker" handelt, ist eine andere Frage. Ich glaube eher, daß die Auffassung von Geßner (1933) zutrifft, daß die Aufnahme der Nährstoffe durch die Hydropoten unabhängig von einer Wasseraufnahme ist (vgl. S. 235). Die Nährsalze würden dann rein auf elektrophysiologischem Wege zur Aufnahme gelangen. Hierfür spricht auch die Tatsache, daß nur die basischen Farbstoffe elektiv von den Hydropoten gespeichert werden. Mit sauren Farbstoffen kann keine elektive Färbung erzielt werden. Ebenso konnte ich für den elektrisch neutralen Farbstoff Rhodamin B (vgl. Drawert 1937 a, b, c) keine Speicherung in den Hydropoten toter und lebender Pflanzen beobachten. Es kann allerdings auch eine Wasseraufnahme und ein Wassertransport auf elektrophysiologischem Wege stattfinden. Es sei hier nur an die Bedeutung von Potentialdifferenzen für die Wasserausscheidung der *Utricularia*-Blasen nach den Unter-

suchungen von Nold (1934) erinnert. Nach Nold besteht zwischen Innen- und Außenseite der Blase eine Potentialdifferenz von 40—50 MV (die Außenseite ist dabei negativ). Mit dem Wasser werden hier noch Salze ausgeschieden, in denen sich z. B. $Ca^{\cdot\cdot}$ und $K^{\cdot}$ nachweisen lassen. Der entsprechende Vorgang ist auch bei den Hydropoten, nur in anderer Richtung denkbar. Es müßten hier also die Außenseiten der Hydropoten gegenüber den inneren Geweben positiv sein, damit ein Wassertransport von außen nach innen stattfinden kann.

Solange diese elektrischen Verhältnisse, vor allem durch Potentialmessungen an der lebenden Pflanze, nicht geklärt sind, läßt sich kein wirklich einwandfreier Beweis erbringen, ob tatsächlich Wasser aufgenommen wird oder ob die Hydropoten nach Geßner (1933) nur als „Anionenfänger" dienen, oder ob es eventuell auch möglich ist, daß etwa zeitweise durch die Hydropoten ein Wasseraustritt stattfindet. Eine Klärung dieser rein physiologischen Fragen war aber auch nicht das Hauptziel dieser Arbeit, sondern ich wollte nur zeigen, wie weitgehend das besondere Verhalten der Hydropoten noch an der fixierten, also toten Pflanze erhalten bleibt.

Man kann nun den berechtigten Einwand erheben, ob denn überhaupt die elektive Farbstoffspeicherung ein besonderes Kennzeichen der Hydropoten sei; ob es zulässig sei, aus dieser Farbstoffaufnahme indirekt den allgemein gültigen Schluß zu ziehen, daß die Hydropoten in erster Linie der Stoffaufnahme dienen. Wir haben weiter oben gesehen, daß die Spaltöffnungen in der Oberseite der fixierten Blätter von *Ceratopteris thalictroides* auch eine elektive Farbstoffspeicherung aufweisen. Linsbauer (1927) und Weber (1927) beschreiben dasselbe von den Spaltöffnungen der lebenden Blätter von *Zebrina pendula*. An der lebenden Pflanze können sogar ausgesprochene Exkretionsorgane elektiv herausgefärbt werden, wie die Hydathoden von *Veronica beccabunga* (Weber 1932), die Drüsenhaare von *Rumex acetosa* und *R. patientia* (Pekarek 1934, Strugger 1935) und die Nektarien von *Euphorbia Gerardiana* (Pekarek 1929, vgl. auch Strugger 1935, Fig. 50 bis 54). Am fixierten Gewebe besteht jedoch ein großer Unterschied in den elektiven Färbungen der Hydropoten und z. B. der Spaltöffnungen. Die Hydropoten färben sich über einen sehr großen pH-Bereich, sind also weitgehend unabhängig von der C_H der Farblösung. Abhängigkeit von der C_H zeigt nur der Bezirk der Hydropotenzellen, der den Farbstoff aufnimmt. Haben wir z. B. den Umschlagspunkt des Farbstoffes nach der alkalischen Seite hin überschritten, so wird die Mem-

brankuppenfärbung von einer Plastiden-Zytoplasmakuppenfärbung abgelöst (vgl. Drawert 1937c, S. 212, Fig. 7). Die elektive Färbung der anderen Organe und Gewebe ist dagegen, jedenfalls beim fixierten Material, mehr an die C_H der Farblösungen gebunden (vgl. z. B. die große C_H-Abhängigkeit der elektiven Färbung der Blattzähne von *Hydrilla verticillata* in Fig. 13 und 14). Den Hauptunterschied sehe ich aber darin, daß die Farbstoffspeicherung in den Hydropoten nur vorübergehend ist. Wie wir weiter oben gesehen haben, wandert der Farbstoff nach kurzer Anfärbung der Hydropoten und Übertragung in ein farbloses Medium von entsprechender C_H in kurzer Zeit aus den Hydropoten in andere Gewebe und wird von diesen endgültig gespeichert. Die elektive Färbung der Hydropotenzellen ist also nur von kurzer Dauer. Die Färbung der anderen Organe z. B. der Spaltöffnungen bleibt dagegen in den farblosen Puffern mit entsprechender C_H zum Teil tagelang erhalten. Hier wird der Farbstoff also nicht nur aufgenommen und vorübergehend, sondern dauernd gespeichert.

Aus dieser nur vorübergehenden Anfärbung der Hydropoten erklären sich auch die Angaben von Rudolph (1925). Rudolph erhielt nach einer Durchtränkung der lebenden Blätter von *Potamogeton speciosus*, *Callitriche vernalis*, *Heteranthera zosterifolia*, *Myriophyllum proserpinacoides*, *Sagittaria teres* und *Vallisneria spiralis* mit 1% Ferrozyankali und darauffolgender Übertragung in 0,5% Ferrisulfat eine Bildung von Berlinerblau unter der Frontalwand (Membrankuppenfärbung). Mit Methylenblau konnte er dagegen nie eine Membrankuppenfärbung an denselben Objekten beobachten. Wie aus meinen Angaben am fixierten Material hervorgeht, ist die Membrankuppenfärbung bei vielen Objekten von so kurzer Dauer, daß sie nur unter Anwendung von Kunstgriffen für längere Zeit erhalten werden kann.

Als Hauptkennzeichen der Hydropoten fixierter Blätter in ihrem Verhalten gegenüber basischen Farbstoffen können wir also hervorheben: Die elektive Färbung der Hydropoten ist im Gegensatz zu der anderer Organe nur von kurzer Dauer. Es kommt hier somit zu keiner festen Speicherung des Farbstoffes. Von diesem unterschiedlichen Verhalten der Hydropoten in der elektiven Färbung indirekt auf eine stoffaufnehmende Eigenschaft zu schließen, erscheint mir zulässig. Für einen endgültigen Beweis dieser Auffassung und eine Klärung der Frage nach den Kräften, die hier in erster Linie eine Rolle spielen, müssen allerdings erst die Ergebnisse weiterer Versuche abgewartet werden.

V. Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. In 70%igem Alkohol fixierte Blätter von schwimmenden und submersen Wasserpflanzen werden mit Toluidinblau, gelöst in destilliertem Wasser oder in Puffergemischen von verschiedener C_H, gefärbt. Zur Untersuchung gelangen Vertreter aus folgenden Gattungen und Familien: *Ceratopteris*, *Salvinia*, *Alismataceae*, *Potamogetonaceae*, *Aponogetonaceae*, *Hydrocharitaceae*, *Bromeliaceae*, *Nymphaeaceae*, *Ceratophyllaceae* und *Halorrhagidaceae*.

2. Es tritt am fixierten Material genau wie am lebenden eine elektive Färbung der Hydropoten ein.

3. Bei den *Hydrocharitaceen*, die nach Mayr keine Hydropoten aufweisen, besitzen die Membrankuppen einer Anzahl der morphologisch gleichmäßig gebauten Epidermiszellen Hydropotenfunktion, ebenso bei *Ceratopteris thalictroides*.

4. Die Saugschuppen an den Blättern von *Vriesea psittacina*, die wohl als den Hydropoten der Wasserpflanzen analoge Organe aufgefaßt werden können, speichern auch am fixierten Material elektiv die basischen Farbstoffe.

5. Von *Ceratopteris thalictroides* lassen sich auch an fixierten Blättern außer den Hydropotenzellen die Spaltöffnungen, das Schwammparenchym und die Tracheïden elektiv mit basischen Farbstoffen färben.

6. Die elektive Färbung der Hydropoten und die der Spaltöffnungen sowie der anderen Organe unterscheiden sich aber deutlich in zwei Punkten: a) Die elektive Färbung der Hydropoten ist von der C_H weitgehend unabhängig, die der anderen Organe ist auf einen verhältnismäßig engen pH-Bereich begrenzt. b) Die elektive Farbstoffspeicherung der Hydropoten ist nur vorübergehend, d. h. nach der Übertragung der Blätter aus der Farbstofflösung in ein entsprechendes farbloses Medium entfärben sich die Hydropoten sehr schnell, und der Farbstoff wandert in die anstoßenden Gewebe, während sich die elektive Farbstoffspeicherung der anderen Organe als sehr beständig erweist. Nach einer Übertragung in ein farbloses Medium, das natürlich die notwendige C_H besitzen muß, bleibt im letzten Fall die elektive Färbung oft tagelang erhalten.

7. Die Hydropoten am fixierten Material zeigen gegenüber den basischen Farbstoffen ein den Hydropoten an der lebenden Pflanze entsprechendes Verhalten. Es konnte somit ein weiterer Beweis dafür erbracht werden, daß es zulässig ist, von einer protoplasmatischen Anatomie der fixierten Pflanze zu sprechen.

Literaturverzeichnis.

Drawert, H., Das Verhalten der einzelnen Zellbestandteile fixierter pflanzlicher Gewebe gegen saure und basische Farbstoffe bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration. Flora **132,** 91 (1937a). — Ders., Der Einfluß anorganischer Salze auf die Aufnahme und Abgabe von Farbstoffen durch die pflanzliche Zelle Ber. deutsch. Bot. Ges. **55,** 380 (1937b). — Ders., Protoplasmatische Anatomie des fixierten *Helodea*-Blattes. Protoplasma **29,** 206 (1937c). — Geßner, F., Die Nährstoffaufnahme der Submersen. Ber. deutsch. Bot. Ges. **51,** 216 (1933). — Gicklhorn, J., Über die Entstehung und die Formen lokalisierter Manganspeicherung bei Wasserpflanzen. Protoplasma **1,** 372 (1927). — Grüß, J., Die Luftblätter der *Nymphaeaceen.* Ber. deutsch. Bot. Ges. **45,** 454 (1927a). — Ders., Die Haustoren der *Nymphaeaceen.* Ber. deutsch. Bot. Ges. **45,** 459 (1927b). — Heil, H., Ökologische Untersuchungen an Wasserpflanzen. Jahrb. wiss. Bot. **70,** 348 (1929). — Herzog, R., Anatomische und experimentell morphologische Untersuchungen über die Gattung *Salvinia.* Planta **22,** 490 (1934). — Linsbauer, K., Weitere Beobachtungen an Spaltöffnungen. Planta **3,** 527 (1927). — Ders., Die Epidermis. Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. IV. Berlin 1930. — Mayr, F., Hydropoten an Wasser- und Sumpfpflanzen. Beih. z. Bot. Centralbl. **32,** 278 (1915). — Meyer, F. J., Zur Frage der Funktion der Hydropoten. Ber. deutsch. Bot. Ges. **53,** 542 (1935). — Nold, R. H., Die Funktion der Blase von *Utricularia vulgaris.* (Ein Beitrag zur Elektrophysiologie der Drüsenfunktion.) Beih. z. Bot. Centralbl. **52,** 415 (1934). — Pekarek, J., Vitalfärbung von Nektarien. Kolloidchem. Beih. **28,** 353 (1929). — Ders., Über die Aziditätsverhältnisse in den Epidermis- und Schließzellen bei *Rumex acetosa* im Licht und im Dunkeln. Planta **21,** 419 (1934). — Perrot, E., Sur une particularité de structure de l'épiderme inférieur de la feuille chez certaines *Gentianées* aquatiques. Journ. de Bot. **11,** 1 (1897). — Ders., Anatomie comparée des *Gentianacées.* Ann. d. Sci. nat. Bot., 8. Ser. **7,** 105 (1899). — Riede, W., Untersuchungen über Wasserpflanzen. Flora **114,** 1 (1921). — Rudolph, K., Epidermis und epidermale Transpiration. Bot. Archiv **9,** 49 (1925). — Schönleber, K., Beiträge zur Kenntnis der Manganvererzung der Pflanzenzellmembran. Protoplasma **27,** 599 (1937). — Solereder, H., Systematisch anatomische Untersuchungen des Blattes der *Hydrocharitaceen.* Beih. z. Bot. Centralbl. **30,** 24 (1913). — Strugger, S., Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin 1935. — Weber, Fr., Physiologische Ungleichheit bei morphologischer Gleichheit. Österr. Bot. Zeitschr. **74,** 256 (1925). — Ders., Vitale Blattinfiltration. Protoplasma **1,** 581 (1927). — Ders., Protoplasmatische Ungleichheit morphologisch gleicher Zellen. Protoplasma **15,** 293 (1932).

Nachtrag.

Leider habe ich bei der Besprechung der Literatur die Angaben von Czaja (1936) über die Vitalfärbung der Hydropoten von Wasserpflanzen übersehen. Czaja tritt auf Grund seiner Versuchsergebnisse auch ganz entschieden für die Funktion der Hydropoten als Absorptionsorgane ein (S. 98).

Czaja, A. Th., Untersuchungen über den Membraneffekt des Absorptionsgewebes und über die Farbstoffaufnahme in die lebende Zelle. Planta **26,** 90 (1936).

Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Speicherung und Wanderung des Fluoreszeinkaliums in pflanzlichen Geweben.

Von **Siegfried Strugger.**

(Aus der Botanischen Anstalt der Universität Jena.)

Mit 4 Abbildungen im Text und 2 Tafeln.

I. Einleitung.

Durch die Arbeiten von Metzner (1924), Haitinger und Linsbauer (1933, 1935a, b), Schumacher (1933, 1936, 1937), Döring (1935) und Strugger (1937) wurde die Fluoreszenzmikroskopie in die botanische Forschung eingeführt. Es zeigte sich, daß der fluoreszenzmikroskopische Nachweis geeigneter Substanzen ungemein empfindlich und chemischen Methoden in mancher Hinsicht überlegen ist. Durch den optischen Nachweis der Substanz erfährt die Zelle bei vorsichtigem Mikroskopieren keine Schädigung. Aus dieser methodisch so ungemein günstigen Sachlage heraus ergibt sich die Forderung nach einem weiteren Ausbau unserer Kenntnisse über die Aufnahme, Speicherung und Wanderung von fluoreszierenden Substanzen im lebenden Gewebe mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie, wobei die Leistungsfähigkeit der Methode durch die Anwendung eines vollkommen durchkonstruierten, möglichst lichtstarken Fluoreszenzmikroskopes[1]) noch eine wesentliche Steigerung erfahren kann. Zwei Fragestellungen sind dabei im gemeinsamen Zusammenhange zu prüfen:

1. Die Analyse der Aufnahme und Speicherung fluoreszierender Stoffe in Zellen und Geweben mit Hilfe der Farbbadmethode in genau definierten Medien.
2. Die Analyse der Wanderung solcher Stoffe in Zellen und Geweben.

Beide Fragestellungen können nicht gesondert bearbeitet werden, denn sie müssen sich notwendigerweise gegenseitig ergänzen. Es erscheint mir unmöglich, Wanderungsversuche in Geweben vorzunehmen, ohne eine eingehende Kenntnis der Speicherungsbedingungen für die zu untersuchende Substanz vorher erlangt zu haben.

Für die Aufnahme und Speicherung der Anilinfarben durch lebende Pflanzenzellen konnten Bethe (1905, 1922), Ruhland (1908, 1912), Strugger (1935b, 1936a) und Czaja (1935, 1937) den Nachweis erbringen, daß eine nicht mehr zu vernachlässigende Abhängigkeit von den Eigenschaften des Farbstoffes, von der Wasserstoffionenkonzentration und von den physiologischen Eigentümlichkeiten der Zellen besteht. Für die Aufnahme und Speicherung eines Farbstoffes läßt sich

1) Das Fluoreszenzmikroskop wurde dem Institut von der Carl-Zeiss-Stiftung geschenkt. Herrn Prof. Dr. h. c. A. Köhler bin ich für seine persönliche Unterstützung und Beratung zu Dank verpflichtet.

keine allgemeine Norm aufstellen, sondern es muß von Fall zu Fall durch geeignete, möglichst quantitative Versuche eine Faktorenanalyse durchgeführt werden, um zu einem Verständnis der Farbstoffaufnahme, -speicherung und -verteilung gelangen zu können. Es muß somit die Forderung erhoben werden, solche Untersuchungen an möglichst einfach gebauten, optisch gut erfaßbaren Objekten durchzuführen, die ohne Verletzung herangezogen werden können. Unübersichtliche Objekte führen notwendigerweise zu Kontroversen.

Dies zeigt uns das Beispiel der Siebröhren in neuester Zeit deutlich. (Man vergleiche die gegensätzlichen Anschauungen über die Lokalisation der Farbstoffwanderung in Siebröhren bei Schumacher [1933, 1936, 1937] und Rhodes [1937].)[1])

Die vorliegende Arbeit beabsichtigt nicht eine Klärung dieser Streitfrage, sie wird aber sicherlich Beiträge enthalten, die zur weiteren Beantwortung dieses Fragenkomplexes von Wichtigkeit sein werden.

Das Ziel dieser Arbeit ist die Analyse der Aufnahme, Speicherung, Verteilung und Wanderung des Fluoreszeinkaliums in der oberseitigen Schuppenepidermis von *Allium Cepa* und in den Blättern von *Helodea densa.*

II. Die Analyse der Farbstoffaufnahme und -speicherung durch die Epidermiszellen der Zwiebelschuppe von *Allium Cepa.*

Döring (1935) hat für das Kaliumfluoreszein erstmalig die Speicherungsbedingungen an diesem Objekt untersucht, wobei er schon mit Recht auf die große Rolle der Wasserstoffionenkonzentration hinwies. Die neueren Erfahrungen aber lehrten, daß es unbedingt notwendig ist, mit genau definierten Medien zu arbeiten, so daß ich zunächst die Experimente Dörings einer Nachuntersuchung unterziehen mußte. Dabei wurde die Rolle der Wasserstoffionenkonzentration möglichst quantitativ berücksichtigt.

Nach den Erfahrungen, die ich (1935, 1936) und Drawert (1937) sammeln konnten, wurden gefärbte und ungefärbte Puffergemische hergestellt, die eine gröber und feiner abgestufte Reihe umfaßten.

Die nachstehenden Tabellen 1 und 2 geben über die Art der Herstellung solcher Pufferreihen und ihre Zusammensetzung Auskunft.

Stammlösungen: $^{n}/_{10}$ HCl (Merck).

I = $^{1}/_{15}$ mol. primäres Kaliumphosphat (Merck).

II = $^{1}/_{15}$ mol. sekundäres Natriumphosphat (Merck).

III = $^{1}/_{15}$ mol. tertiäres Natriumphosphat (Merck).

Doppelt destilliertes Wasser (Jenaer Glas).

Farbstammlösung 1:1000 Kaliumfluoreszein (Merck) in doppelt dest. Wasser.

Die Puffer wurden in Paaren ungefärbt (a) und gefärbt (b) mit derselben Zusammensetzung hergestellt. Nur wurde bei den gefärbten Puffern statt 90 ccm Wasser 80 ccm Wasser und 10 ccm der Farbstammlösung verwendet, so daß die Farbkonzentration in den gefärbten Puffern 1:10000 betrug. Die pH-Messung erfolgte mit der Wasserstoffelektrode.

1) Ich verweise auf die Arbeit von Both, P. M. (Rec. d. trav. Bot. néerl. **34**, 2), in welcher diese Fragen sehr eingehend behandelt sind, und wo auch weitere Literatur einzusehen ist.

Die Feststellung von Rhodes (1937), wonach unter pH 5 das Fluoreszein auszuflocken beginnt, konnte ich bestätigen, aber diese Ausflockung erreichte bei meinen Puffern nur ein sehr bescheidenes Maß, und daß gar die Fluoreszenz verschwinden soll, davon kann nach meinen Beobachtungen überhaupt nicht die Rede sein. Selbst Farblösungen mit pH 2 fluoreszierten noch immer stark, wenn auch die Fluoreszenz gegenüber alkalischen Lösungen etwas abgeschwächt ist. Die Epidermen wurden nach dem von mir (1935) angegebenen Verfahren präpariert und schwimmend auf die Farblösung mit ihrer Unterseite gelegt. Die Untersuchung der Färbung erfolgte im ungefärbten Puffer, der mit Annäherung dieselbe Ch aufweist wie der gefärbte. Sowohl Kurzfärbungen (3—5 Minuten) als auch Langfärbungen (30 Minuten) wurden vorgenommen, wobei sich für das Verständnis der Farbstoffeinwanderung gerade Kurzfärbungen als sehr vorteilhaft erwiesen haben. Die folgende Tabelle 3 bringt uns die Ergebnisse einer gröber abgestuften Ch-Reihe. Das erste + oder — Zeichen gibt das Ergebnis nach Kurzfärbung, das zweite Zeichen das Färbungsbild für Langfärbung. Sind mehrere Zeichen vorhanden, so trat ein Färbeeffekt sehr rasch und stark auf, ist dagegen nur ein Zeichen gegeben, so war zwischen Kurz- und Langfärbung kein Unterschied.

Tabelle 1.

Nr.	n/10 HCl	I	II	III	H_2O / H_2O + Farbe	pH a / b
1	9,5	0,5	—	—	90 / 80 + 10	2,09 / 2,09
2	0,5	9,5	—	—	90 / 80 + 10	3,51 / 3,93
3	—	10	—	—	90 / 80 + 10	4,84 / 5,47
4	—	9	1	—	90 / 80 + 10	5,81 / 5,78
5	—	8	2	—	90 / 80 + 10	6,36 / 6,43
6	—	4	6	—	90 / 80 + 10	7,11 / 6,82
7	—	6	—	4	90 / 80 + 10	7,63 / 7,77
8	—	5,5	—	4,5	90 / 80 + 10	8,22 / 8,37
9	—	5	—	5	90 / 80 + 10	10,15 / 10,34
10	—	4	—	6	90 / 80 + 10	11,14 / 11,13

Tabelle 2.

Nr.	n/10 HCl	I	II	pH ungef.	pH gef.
1	9,5	0,5	—	2,04	2,04
2	8	2	—	2,12	2,14
3	6,5	3,5	—	2,24	2,25
4	5	5	—	2,38	2,40
5	3,5	6,5	—	2,56	2,61
6	2	8	—	2,87	2,94
7	0,5	9,5	—	3,46	3,87
8	0,35	9,65	—	3,66	4,19
9	0,2	9,8	—	3,95	4,78
10	0,05	9,95	—	4,38	5,26
11	—	1	9	7,77	7,83

Wasser- bzw. Farblösung wie in Tabelle 1.

Im sauren Medium bis pH 5 wird der Farbstoff stark und sehr

rasch im Protoplasten gespeichert. Weder in der Membran, noch in der Vakuole ist eine Färbung nachweisbar. Im schwach sauren und schwach alkalischen Bereich dagegen trat eine Speicherung des Farbstoffes im Plasma nur sehr langsam ein und konnte demnach nur nach Langfärbungen nachweisbar sein. Bei Kurzfärbung ist dann regelmäßig eine klar beobachtbare Speicherung des Farbstoffes in der Membran festzustellen, die aber nach Langfärbungen immer verschwindet.

Tabelle 3.

pH	Membran	Plasma	Kerne	Vakuolen
2,09	—	+ + +	+ + +	—
3,93	—	+ + +	+ + +	—
5,47	+ —	— +	— +	—
5,78	+ —	— +	— +	—
6,43	+ —	— +	— +	—
6,82	+ —	— +	— +	—
7,77	+ —	— +	— +	—
8,37	+ —	— +	—	—
10,34	+ —	—	—	—
11,13	+ —	—	—	—

Um den kritischen Punkt des Aufhörens der Plasmaspeicherung noch genauer festzustellen, habe ich noch Feinreihen durchgeführt, von denen ein Protokoll in nachstehender Tabelle 4 wiedergegeben ist.

Wir ersehen aus dieser Zusammenstellung, daß eine gute Übereinstimmung mit den Befunden der Grobreihen besteht, und daß der kritische pH-Bereich zwischen pH 4,78 und 5,26 gelegen ist. Oberhalb dieses Bereiches ist bei Kurzfärbung immer eine Membranfärbung, bei Langfärbung immer eine geringe Plasmafärbung zu beobachten.

Tabelle 4.

pH	Membran	Plasmen	Kerne	Vakuolen
2,04	—	+ + +	+ + +	—
2,14	—	+ + +	+ + +	—
2,25	—	+ + +	+ + +	—
2,40	—	+ + +	+ + +	—
2,61	—	+ + +	+ + +	—
2,94	—	+ + +	+ + +	—
3,87	—	+ +	+	—
4,19	—	+ +	+	—
4,78	—	+ +	+	—
5,26	+ —	— +	— +	—
7,83	+ —	— +	— +	—

Um diese vorübergehende Membranfärbung, die Döring entgangen ist, näher kennenzulernen, habe ich noch besondere Versuchsreihen durchgeführt, von denen hier einige Protokolle im Auszug wiedergegeben seien.

1. Versuchsreihe. Der gefärbte Puffer enthielt das Kaliumfluoreszein im Verhältnis 1 : 5000, pH = 4,66.

Ungefärbter Puffer, pH = 3,56.

Färbedauer 5 Minuten: Es ist ausschließlich eine sehr starke Plasma- und Kernfluoreszenz zu beobachten.

Färbedauer 15 Sekunden und rasche Untersuchung im ungefärbten Puffer: Das Plasma und die Kerne sind gut gefärbt, eine Membranfärbung ist nicht zu sehen.

Färbedauer 1 Sekunde und möglichst rasche Untersuchung im ungefärbten Puffer: Innerhalb der ersten 10—20 Sekunden ist neben einer beginnenden Plasmafärbung auch eine Membranfärbung nachzuweisen, die aber dann vollständig verschwindet, wobei die Intensität der Plasmafluoreszenz zunimmt.

Färbedauer 1 Sekunde und dann möglichst rasche Untersuchung in Leitungswasser pH = 7,64: Die Membranfärbung ist durch etwas längere Zeit hindurch zu sehen, allmählich speichert aber das Plasma den in der Membran befindlichen Farbstoff, und die Fluoreszenz der Membranen verschwindet.

Aus diesen Beobachtungen kann man den Schluß ziehen, daß der Farbstoff folgenden Weg in die Zelle nimmt:

Die Farbstoffaufnahme erfolgt zunächst durch die Membran. Dort aber ist der Farbstoff nicht adsorbiert, sondern er durchtränkt nur die submikroskopischen Kapillarräume (Frey-Wyssling 1937) der Membran. Je nach der adsorbierenden Fähigkeit des Plasmas, die von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig ist, wird nunmehr der Farbstoff schneller oder langsamer der Membran entzogen und vom Protoplasten adsorbiert. Dieser Vorgang spielt sich ungemein schnell ab, wenn im sauren Milieu gefärbt, ausgewaschen und untersucht wird. Überträgt man aber aus der sauren Farblösung nach möglichst kurzer Färbung in schwach alkalisches Leitungswasser, so ist die Plasmaadsorption schon so gehemmt, daß die Membranfärbung als Zwischenstufe erkennbar wird. Diese primäre Membranfärbung hat aber mit der von Czaja (1937) mit basischen Farbstoffen beobachteten Erscheinung nichts zu tun. Die basischen Farbstoffe werden von einer bestimmten C_H an elektrostatisch adsorbiert, was ja für saure Farbstoffe bei den Zellmembranen nur unterhalb des IEP[1]) möglich wäre.

2. Versuchsreihe. Gefärbter Puffer 1:5000, pH = 6,48.

Ungefärbter Puffer, pH = 6,48.

Färbedauer 5 Sekunden, 15 Sekunden und 1 Minute, dann im ungefärbten Puffer untersucht: Das Plasma ist völlig ungefärbt, es ist lediglich eine gut nachweisbare Membranfärbung zu beobachten.

Färbedauer 5 Minuten und Beobachtung im ungefärbten Puffer: Neben der Membranfärbung ist noch eine gut sichtbare Plasma- und Kernfärbung zu sehen.

Färbedauer 13 Minuten und Untersuchung im ungefärbten Puffer: Keine Membranfärbung, sondern reine Plasma- und Kernfärbung.

Färbedauer 1 Minute und nachherige Behandlung im ungefärbten Puffer (7 Minuten) und Beobachtung im ungefärbten Puffer: Die Membranfärbung ist verschwunden, der Farbstoff ist vom Protoplasten gespeichert worden.

1) IEP = Isoelektrischer Punkt.

Auch diese Versuche bestätigen vollauf das oben entworfene Bild. Im schwach sauren Bereich ist also die Adsorptionskraft des Plasmas geringer geworden, und aus diesem Grunde ist nach Kurzfärbungen lediglich eine Membranfärbung zu sehen. Erst wenn das Plasma allmählich adsorbiert, verschwindet diese Membranfärbung.

3. Versuchsreihe. Gefärbter Puffer (1:5000), pH = 8,22.

Ungefärbter Puffer, pH = 8,14.

Kurzfärbungen ergaben immer eine starke Membranfluoreszenz.

Erst nach 10 Minuten Färbedauer beginnt auch das Plasma sich langsam zu färben. Kurzfärbung und nachträgliche Übertragung in den ungefärbten Puffer geben nach 30 Minuten schöne Bilder einer schwachen Anfärbung der Protoplasten.

4. Versuchsreihe. Leitungswasser ungefärbt, pH = 7,36.

Fluoreszeinkalium 1:1000 in 2mal dest. Wasser, pH = 7,64.

Färbedauer 5 Sekunden, dann Untersuchung in Leitungswasser: Die Membranen sind sehr stark gefärbt, die Protoplasten farblos.

Färbedauer 1 Minute: Neben der Membranfärbung ist auch im Plasma eine leichte Anfärbung peripherer Schichten zu sehen.

Färbedauer 18 Minuten: Membran- und Plasmafärbung sind stark ausgeprägt.

Färbedauer 30 Minuten: Die Membran ist ungefärbt, lediglich der Protoplast zeigt eine starke Fluoreszenz.

Auch nach längeren Färbezeiten ändert sich dann das Resultat nicht.

Da diese Beobachtungen für das Verständnis der Farbstoffwanderung ungemein wichtig sind, soll schließlich eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse gegeben werden.

1. Das Fluoreszeinkalium wird vom Protoplasten in strenger Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration des umgebenden Mediums gespeichert. Je saurer die Farblösung ist, desto rascher adsorbiert der lebende Protoplast den Farbstoff. Auch im schwach sauren und schwach alkalischem Bereich ist der Protoplast befähigt, das Fluoreszein langsam aufzunehmen, der Vorgang dauert nur wesentlich länger.

2. Die erste Stufe der Farbstoffaufnahme ist eine labile Infiltration der Zellmembranen mit der Farbstofflösung. Diese Durchtränkungsfärbung ist in ihrem Auftreten C_H-unabhängig, ihre Dauer ist aber abhängig von der Adsorptionsfähigkeit des Protoplasten für den Farbstoff. Im sauren Medium wird diese Stufe ungemein rasch durchschritten, im alkalischen Medium ist sie bequem zu beobachten.

III. Die Einwanderung des Fluoreszeinkaliums in die obere Schuppenepidermis der Zwiebel von *Allium Cepa*.

Für die Einwanderungsversuche wurde der von Schumacher (1933) beschrittene Weg beibehalten. Die Farbstoffgelatine wurde aber auf völlig unverletzte Zellen der Epidermis aufgelegt, wodurch Fehlerquellen, die infolge der Verletzungen auftreten können (Döring 1935), vermieden wurden.

Stets wurde die 3. Schuppe von außen für die Versuche verwendet. Ihre Präparation nahm ich so vor, daß die Innenepidermis mit einem scharfen Rasiermesser in quadratische Stücke von etwa 1 cm Seitenlänge geteilt wurde, und dann die ganze Schuppe kurz mit Hilfe der Wasserstrahlluftpumpe unter Wasser infiltriert wurde. Wenn die Epidermen nicht das lästige Rollen zeigen, lassen sich dann die Häutchen ohne Gewaltanwendung abheben. Mit ihrer kutinisierten Außenseite legte ich dann diese Häutchen auf einen Quarzobjektträger, auf einen Tropfen fluoreszenzfreien Paraffinöls, so daß sich das Häutchen gut ausbreitete. Die nicht kutinisierte Unterseite der Epidermis blieb zunächst noch unbenetzt, damit die Oberfläche der Membranen etwas austrocknet, was den Zellen nach meinen Beobachtungen keinen Schaden zufügt. Die Farbstoffgelatine, hergestellt aus einer Fluoreszeinkaliumlösung in zweimal destilliertem Wasser 1:100, 6%ig, wird dann in Form eines kleinen Plättchens in der Mitte des Epidermisstückes aufgelegt. Das ganze Präparat wird sofort mit Paraffinöl überdeckt und das Deckglas aufgelegt. Die Beobachtung der Farbstoffeinwanderung aus dem Gelatineplättchen in die Epidermis kann dann sofort im Fluoreszenzmikroskop vorgenommen werden. Die optische Ausrüstung dieses Instrumentes (Zeiss) war folgende: Bogenlampe 10 Amp. mit Spezialkohlen. Optische Bank mit Quarzlinsensystem und Kupfersulfatküvette (5% oder 1%). Ein Blaufilter und ein Ultraviolettfilter wechselbar. Quarzprisma statt Spiegel, Quarzkondensor. Achromatische und Apochromatische Objektive. Im Okular war ein Euphos-Deckglas eingebaut.

Der Verlauf der Fluoreszeineinwanderung kann bei Zimmertemperatur 20° in folgender Weise regelmäßig beobachtet werden.

Mit großer Geschwindigkeit wandert der Farbstoff in die Membranen der Epidermiszellen ein. In den Längswänden ist schon nach wenigen Sekunden diese Membranwanderung des Farbstoffes zu beobachten, die in der Längsrichtung der Zellen schnell, in der Querrichtung der Zellen naturgemäß langsamer vor sich geht. Die Flächenmembranen leuchten dagegen nur sehr schwach, was mit der geringen Schichtdicke und mit der einseitigen Unpassierbarkeit infolge der Kutinisierung zusammenhängt. Nach 10 Minuten ist auf dem Wege der Membranwanderung schon rings um die Gelatine ein beträchtlicher Teil des Gewebes angefärbt. Dabei ist die Membranfluoreszenz mit zunehmender Entfernung von der Farbstoffquelle schwächer, bis schließlich ein unmerkbarer Übergang zur graublauen Eigenfluoreszenz der Membranen erreicht ist. Innerhalb der ersten 10 Minuten ist also klar die Membran die Wanderbahn für den Farbstoff. Beobachtet man länger, so kann man deutlich sehen, wie nunmehr der die Membranen infiltrierende Farbstoff langsam von den Protoplasten gespeichert wird. Zunächst färben sich die peripheren Plasmaschichten, dann der Kern und schließlich die zentralen Plasmastränge durch. Die Membranen entfärben sich dabei vollständig, so daß sie als schwarze Linien klar zu beobachten sind. Diese Bilder habe ich mikrophotographisch festgehalten (Taf. I).

Fig. 1 zeigt deutlich die Membraneinwanderung des Farbstoffes. Fig. 2 die Endphase, erreicht nach 20 Minuten. Die gefärbten Protoplasten zeigen nicht die geringste Schädigung. Sowohl die Plasmakonfiguration, als auch die Plasmaströmung ist normal geblieben. Eine Vakuolenfärbung tritt in der Nähe der Gelatine bei Überfärbung auf.

Untersucht man ein solches Präparat länger, so wandert der Farbstoff langsam allmählich bis zum Rand des Epidermishäutchens weiter. Eine Membranfärbung konnte ich aber niemals mehr erkennen. Es scheint, als ob der Farbstoff in Übereinstimmung mit den Befunden Schumachers (1936) nunmehr lediglich im Plasma weiterwandert.

Bei diesen Versuchen muß man sehr darauf achten, ein und dieselbe Stelle des Präparates nicht zu lange der intensiven Bestrahlung mit dem langwelligen Ultraviolett auszusetzen. Unvermeidlich treten dann Schädigungen der Zellen auf, die im Laufe von 10—15 Minuten zum Absterben der bestrahlten Zellenkomplexe führen. Durch eine längere Bestrahlung wird die Membranwanderung unzweifelhaft gestört. Die Plasmafluoreszenz beginnt bald abzublassen. Sind die Zellen im Stadium der reinen Plasmafärbung einer längeren Bestrahlung ausgesetzt, so tritt der Farbstoff zunächst wieder in die Membranen über, schließlich sterben die Zellen ab und sind dann in Übereinstimmung mit den Befunden von Döring (1935) fluoreszenzfrei geworden.

Den Einwanderungsvorgang können wir sonach in folgende Phasen zerlegen:

1. Zunächst erfolgt eine rasche Einwanderung des Farbstoffes durch mehrere Zellängen hindurch lediglich in den Zellmembranen.

2. Nach ungefähr 10 Minuten beginnt der Protoplast den durch die Membranen eingewanderten Farbstoff zu adsorbieren. Dies führt dann zur völligen Entfärbung der Membranen.

3. Der Farbstoff wandert in die entlegeneren Teile des Gewebes allem Anscheine nach von Protoplast zu Protoplast weiter, bis das ganze Gewebestück durchgefärbt ist.

Eine Schädigung ist unter Vermeidung allzulanger Bestrahlung eines Zellkomplexes nicht zu bemerken.

Ich unternahm nunmehr den Versuch, die Geschwindigkeit der Einwanderung des Farbstoffes durch die Längsmembranen messend zu verfolgen. Die technischen Schwierigkeiten waren dabei nicht gering. Sobald man längere Zeit hindurch ein und dieselbe Stelle bestrahlt, wird die Wanderung bereits deutlich gehemmt, denn geschädigte Zellen zeigen niemals eine Membranwanderung des Fluoreszeins. Die Er-

fassung der Geschwindigkeit hängt davon ab, mit welcher Genauigkeit eine Abgrenzung gefärbter und ungefärbter Membranpartien möglich ist. Es hat sich gezeigt, daß eine solche Unterscheidung nur innerhalb der ersten Minuten der Einwanderung durchführbar war. Später breitet sich der Farbstoff innerhalb der Membranen in so fein abgestufter Weise aus, daß infolge des allmählichen Überganges von einer schwachen Fluoreszeinfluoreszenz bis zur schwachen Eigenfluoreszenz der Membranen eine sichere Teilstrichschätzung unmöglich erscheint. Außerdem beginnen die Protoplasten langsam den Farbstoff zu speichern, so daß mit Beginn der Plasmaadsorption die Weiterwanderung sichtlich gehemmt wird.

Die Messungen stellte ich demnach so schnell als möglich unmittelbar nach der Herstellung der Präparate an, so daß nur die ersten wirklich leicht erfaßbaren Einwanderungsvorgänge messend verfolgt wurden. Die Bestrahlung des Gewebes erfolgte so kurz als möglich nur während der Messungen selbst. Folgende Tabelle 5 gibt uns die Ergebnisse wieder.

Tabelle 5.

1. Minute	2. Minute	3. Minute	4. Minute	5. Minute	6. Minute	Gemessener Weg
0,41	0,2	0,18	—	—	—	0,79
0,4	0,22	0,13	0,18	0,15	0,06	1,14
0,46	0,3	0,3	0,18	—	—	1,24
0,33	0,15	0,11	0,11	0,11	—	0,81
0,33	0,11	0,11	0,09	—	—	0,64

Die zurückgelegten Strecken sind in Millimeter angegeben.

Die Wanderungsgeschwindigkeit ist unmittelbar nach dem Auflegen der Gelatine am größten und sinkt dann allmählich mit der Abnahme des Konzentrationsgefälles ab. Sicherlich zeigt die Erscheinung viel Verwandtschaft mit einer reinen Diffusion, aber die Wanderungsgeschwindigkeit ist anfangs fast doppelt so groß, als es auf Grund eines reinen Diffusionsvorganges zu erwarten wäre.

IV. Die Wanderung anderer fluoreszierender Stoffe in der Epidermis.

Für eine Theoriefassung war es notwendig, auch andere fluoreszierende Substanzen für solche Versuche heranzuziehen, wobei besonders Stoffe mit möglichst verschiedenen chemischen und physikochemischen Eigenschaften von Interesse waren. Die Speicherungsbedingungen für diese Farbstoffe habe ich noch nicht bearbeitet. Dies soll aber noch im Laufe weiterer Untersuchungen durchgeführt werden.

1. Äskulin. Dieses Glykosid wandert genau so wie das Fluoreszein zunächst nur durch die Membranen in das Gewebe ein. Der Farbstoff wird aber vom *Allium*-Protoplasten viel langsamer gespeichert als das Fluoreszein. Die Folge davon ist, daß in das ganze Gewebestück die Einwanderung des Farbstoffes auf lange Strecken hindurch lediglich in den Membranen vor sich geht. Erst nach einiger Zeit beginnt sich der Protoplast zu färben. Das Äskulin wandert ebenso wie das Fluoreszein mit erheblicher Geschwindigkeit ein.

2. Berberinsulfat. Dieses Alkaloidsalz verhält sich im Gegensatze zum Fluoreszein wie ein basischer Farbstoff. Die Einwanderung durch die Membranen erfolgte aber in schönster Weise. Bis zu 1 cm lange Strecken wurden lediglich auf dem Wege der Membranen von diesem Farbstoff durchwandert. Das Zytoplasma speichert nur langsam, die Zellenkerne etwas stärker. Doch ist die Plasmaadsorption niemals so stark, daß eine Entfärbung der Membranen eintritt. Der Farbstoffnachschub ist immer größer als die Abgabe in die Zelle. Berberinsulfat eignete sich vorzüglich für Filmaufnahmen, da es durch Bestrahlung mit Ultraviolett im Gegensatz zum Fluoreszein noch stärker zu fluoreszieren beginnt.

3. Primulin. Auch damit konnte ich eine reine Membranwanderung auf weitere Strecken hin beobachten. Der Farbstoff besteht aus zwei verschieden dispersen Komponenten. Die eine gröber disperse fluoresziert grünlichgelb und gerät bei der Wanderung ins Hintertreffen. Die feiner disperse Phase fluoresziert ähnlich wie das Äskulin hellblau. Das Plasma vermag auch nach längerer Zeit den Farbstoff nicht ausgiebig zu speichern, so daß eine reine Membranwanderung möglich ist.

4. Trypaflavin, Rhodamin 6G, Sulforhodamin G, Sulforhodamin B. Alle diese Farbstoffe wanderten primär immer durch die Membranen in das Gewebe auf weite Strecken hin ein, und je nach der Speicherungsfähigkeit der Protoplasten erfolgte die Wanderung in den Membranen auf weitere oder kürzere Strecken.

V. Die Analyse der C_H-Abhängigkeit der Farbstoffaufnahme und -speicherung durch das Blatt von *Helodea densa*.

Als zweites und Hauptversuchsobjekt für die Untersuchung der Fluoreszeinwanderung in pflanzlichen Geweben benutzte ich das alte und junge Blatt von *Helodea densa*. Aus denselben Erwägungen heraus wie für mein erstes Versuchsobjekt ergab sich zunächst die Notwendigkeit, die Farbstoffaufnahme und -speicherung in der Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration eingehender zu untersuchen, denn es stellte sich auch hier heraus, daß der Vorgang

der Fluorenzeinwanderung ohne diese Vorarbeit einem Verständnis nicht näher gebracht werden kann.

Im Anschlusse an die Arbeiten über das *Helodea*-Blatt von Weber (1929, 1932), Moder (1932), Meindl (1934), Strugger (1935a) und Drawert (1937e) soll auch gleichzeitig ein weiterer Beitrag zur protoplasmatischen Anatomie des alten und jungen *Helodea*-Blattes gegeben werden.

1. Die C_H-Abhängigkeit der Fluoreszeinspeicherung bei alkoholfixierten Blättern.

Mit der von Drawert (1937b, c, e) ausgearbeiteten Methodik untersuchte ich zunächst die C_H-Abhängigkeit der Fluoreszeinspeicherung an alkoholfixierten Blättern. Durch die Fixation mit Alkohol wird wohl eine Dehydratation der Biokolloide erreicht, aber die elektrische Ladung derselben bleibt erhalten (vgl. Pischinger 1926, 1927, Naylor 1926). Die Färbungsanalyse solcher Objekte ermöglicht einerseits Aussagen über die Dissoziation des Farbstoffes, andererseits über seine elektroadsorptive Bindung an den einzelnen Zellbestandteilen.

Tabelle 6.

pH gef.	pH ungef.	Membran	Plasma	Kerne	Plastiden
1,97	2,02	++	+++	+++	+++
3,47	4,09	—	+++	+++	+++
4,51	5,29	—	++	++	++
6,06	6,17	—	+	+	+
6,43	6,43	—	+	±	+
7,19	7,17	—	—	±	—
7,65	7,64	—	—	—	—
8,00	7,91	—	—	—	—
10,02	10,09	—	—	—	—
11,12	11,11	—	—	—	—

Die Blätter wurden aus dem Alkohol direkt in die gefärbten Pufferlösungen übertragen und nach 1—2 Stunden in den ungefärbten Puffern ausgewaschen und im Fluoreszenzmikroskop untersucht. Die Farbstoffkonzentration in den gefärbten Pufferlösungen betrug 1:10000. Die obenstehende Tabelle 6 bringt uns die Ergebnisse, gewonnen an alten ausgewachsenen Blättern.

Das Fluoreszeinkalium ist ein saurer, nicht umladbarer Farbstoff. Nach der Betheschen Regel müßte im Falle einer elektroadsorptiven Speicherung des Farbstoffes im sauren Milieu die Speicherung erfolgen. Dies ist auch klar der Fall. Das Zytoplasma, die Kerne und Plastiden zeigen die stärkste Speicherung im sauren Bereich bis pH 5. Über pH 5 läßt die Färbung stark nach und nur dem sehr empfindlichen Fluoreszenznachweis ist es zu verdanken, daß noch eine leichte Färbung zu sehen ist. Im neutralen und schwach alkalischen Bereich ist keine Speicherung im Protoplasten zu beobachten. Wir können daraus den

Schluß ziehen, daß die Fluoreszeinfärbung keineswegs eine bloße Durchtränkungsfärbung darstellt, sondern daß der Farbstoff von den positiv geladenen Komponenten der Plasmaeiweiße im sauren Bereich elektroadsorptiv gespeichert wird. Wird der IEP der maßgeblichen Plasmakomponente überschritten (um pH 5), so ist eine elektrostatische Speicherung nicht mehr möglich.

Von besonderem Interesse ist die Färbung der Membranen des oberseitigen Parenchyms im pH-Bereich um 2. Nach den Feststellungen von Drawert (1937e) ist der IEP der Zellmembranen der Blattoberseite von *Helodea*-Blättern bei pH 2,70 gelegen. Dieser Umladungspunkt ist also bei Verwendung des ersten Puffers unterschritten, so daß die vorher negativ geladene Zellmembran nunmehr positiv umgeladen ist und daher die Farbanionen elektrostatisch adsorbieren muß. Oberhalb des IEP trat an alkoholfixierten Blättern niemals eine Membranfärbung auf.

Die Färbungsergebnisse an jungen alkoholfixierten Blättern aus der Knospenregion sind in Tabelle 7 niedergelegt. Die apikale Dauerzone der Blätter verhält sich genau so wie die gesamten Parenchymzellen der Blattoberseite der alten Blätter. In der Wachstumszone wird aber das Fluoreszeinkalium auch noch bis zum schwach alkalischen Bereich im Plasma gespeichert. Daraus ergibt sich die Tatsache, daß der IEP der wachsenden Protoplasten zum Neutralpunkt hin gegenüber ausgewachsenen Zellen verschoben sein muß. Das Plasma junger, noch wachsender Zellen kann also noch um den Neutralpunkt den Farbstoff speichern.

Tabelle 7.

pH gef.	pH ungef.	Dauerzone				Wachstumszone			
		Membran	Plasma	Kerne	Plastiden	Membran	Plasma	Kerne	Plastiden
2,07	2,07	++	+++	+++	+++	±	+++	+++	+++
3,30	4,26	–	++	++	+++	+	+++	+++	+++
4,56	5,75	—	++	++	+	±	+++	++	++
6,14	6,31	—	++	++	+	–	++	++	++
6,52	6,54	—	–	—	—	—	++	++	++
7,20	7,22	—	—	—	—	–	++	+	++
7,76	7,75	—	—	—	—	—	++	+	+
10,04	10,15	—	-	—	—	—	+	+	+
10,06	10,27	—	—	—	–	—	+–	+–	+
11,12	11,18	—	—	–	—	–	+–	+–	+–

2. Die C_H-Abhängigkeit der Fluoreszeinaufnahme und -speicherung bei lebenden Blättern.

Es war ungemein reizvoll im Vergleich mit den Versuchsreihen an alkoholfixierten Blättern mit derselben Methodik lebende Blätter zu untersuchen. Es wurden die Befunde nach 5 Min. und 40 Min. Färbedauer protokolliert. Die Ergebnisse sind in der nebenstehenden Tabelle 8 für alte Blätter und für die Streckungszone junger Blätter niedergelegt. Die Dauerzone der jungen Blätter ist nicht besonders vermerkt, da sich dort dieselben Verhältnisse ergaben wie für die alten Blätter. Alle Angaben beziehen sich auf das oberseitige Blattfeldparenchym. Die Speicherung des Farbstoffes im Protoplasten entspricht bei lebenden Blättern vollkommen den Ergebnissen, die an alkoholfixierten gewonnen werden konnten. Gemäß der Betheschen Reaktionsregel wird der saure Farbstoff im sauren Bereich unterhalb des IEP der ausschlaggebenden Kolloidphase des Plasmas rasch und stark auf elektrostatischem Wege gespeichert (vgl. Taf. 1, Fig. 4). Dabei ist der Unterschied zwischen wachsenden und ausgewachsenen Zellen in gleicher Weise ausgeprägt, wie wir es an alkoholfixierten Blättern nachweisen konnten.

Tabelle 8.

pH gef.	pH ungef.	Nach 5 Min. Färbedauer			Nach 40 Min. Färbedauer			Nach 5 Min. Färbedauer			Nach 40 Min. Färbedauer		
		Membran	Plasma	Kerne	Membran	Plasma	Kerne	Membran	Plasma	Kerne	Membran	Plasma	Kerne
1,97	2,02	+	++	++	+	+++	+++				+–	+++	+++
3,47	4,09	–	+	+	–	++	++					++	++
4,51	5,29	+	–	–	±	+	+					++	++
6,06	6,17	++	–	–	++	–	–					+	+
6,43	6,43	+	–	–	++	–	–					+	+
7,19	7,17	+	–	–	+	–	–					+	+
7,65	7,64	+	–	–	+	–	–				±	–	–
8,06	7,91	±	–	–	+	–	–				±	–	–
10,02	10,09	±	–	–	±	–	–				±	–	–
11,12	11,11	±	–	–	±	–	–				–	–	–
		Alte Blätter und Dauerzone junger Blätter						Junge Blätter, Streckungszone					

Die Membranen verhalten sich aber im lebenden Zustande grundsätzlich verschieden. Ihre Färbung um pH 2 läßt sich ohne weiteres durch die Unterschreitung des IEP der Membran verstehen. Die Membranfärbung im extrem sauren Bereich ist also zweifellos elektroadsorptiv bedingt. Über pH 2,70 könnten wir aber aus rein theoretischen Erwägungen heraus keine Membranfärbung mehr erwarten. Sie ist auch zwischen pH 3 und 4 nicht nachzuweisen. Wird aber das Adsorptionsmaximum des Protoplasten überschritten, so ist bis weit in den alkalischen Bereich hinein eine leichte Anfärbung der Membranen klar festzustellen (vgl. Taf. 1, Fig. 3). Bei dieser Membranfärbung kann es sich nicht um eine elektrostatische Speicherung handeln, und wir können aus der Tabelle auch ersehen, daß diese Färbung keine eindeutige Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration aufweist. Das Ausbleiben dieser Membranfärbung bei alkoholfixierten Blättern beweist uns diesen Schluß. Die bei lebenden Blättern auftretende Membranfärbung oberhalb pH 5 hat vielmehr einen anderen Charakter. Der Farbstoff wird durch Imbibition der submikroskopischen Kapillarensysteme in den Membranen angereichert, wobei der Lebenszustand der Zellen eine maßgebliche Rolle spielt. Tote oder plasmolysierte Zellen zeigen diese Membranfärbung niemals. Die Färbung der Membranen ist oberhalb pH 5 eben deshalb im Fluoreszenzmikroskop nachweisbar, weil der Farbstoff nicht vom Protoplasten wegadsorbiert werden kann.

Aus diesen Tatsachen ergibt sich eine wichtige prinzipielle Übereinstimmung mit den Befunden an den Epidermen von *Allium*, und ich verweise auf meine Ausführungen auf S. 257.

Die Streckungszonen junger Blätter färben sich erst nach längerem Verweilen im Farbbade oder bei Anwendung stärkerer Farbstoffkonzentrationen an. Die Verschiebung der Adsorptionsfähigkeit wachsender Plasmen gegen den Neutralpunkt hin kommt auch bei lebenden Blättern klar zum Ausdrucke. Es muß wohl die Membran- und Plasmapermeabilität junger Zellen für den Farbstoff wesentlich geringer sein als die alter Zellen, wodurch ein weiterer Beitrag zum Problem der zonalen Färbbarkeit junger *Helodea*-Blätter (Lilienstern 1935, Strugger 1935a) gegeben wird. Ursprünglich ist diese zonale Färbbarkeit für die basischen Farbstoffe Neutralrot und Methylenblau beschrieben worden. Diehl (1937) glaubt, daß es sich dabei einfach um eine überaus geringe Membranpermeabilität in der Streckungszone handelt, wobei sie angibt, daß die wachsenden Zellen eine undurchlässige Kutikula besitzen. Daß aber diese Dinge nicht so einfach liegen, konnte Drawert (1937e) zeigen.

Er kommt zu folgenden gemeinsam gültigen Erklärungsprinzipien:

1. Im Sinne Liliensterns (1935) kann das verschiedene Reduktionsvermögen alter und junger Zellen im Falle der Anwendung eines leicht reduzierbaren Farbstoffes zur zonalen Färbung führen. Dieser Fall kann aber bisher nur für das Methylenblau als erwiesen gelten. Für das Neutralrot und Rhodamin B (Strugger 1935a, 1936) und für das Fluoreszeinkalium kommt aber diese Erklärung nicht in Frage.

2. Permeabilitätsunterschiede der Protoplasten könnten dafür verantwortlich gemacht werden (Strugger 1935a). Für das Fluoreszein ist diese Erklärungsweise auf Grund der vorliegenden Beobachtungen teilweise sicherlich zutreffend.

3. Auch Permeabilitätsunterschiede der Zellwände ohne besondere Annahme einer morphologisch nachweisbaren Kutikula können die zonale Färbbarkeit mit bedingen. Auch dieser Punkt ist in unserem Falle nicht vollkommen auszuschließen, was die lange Färbedauer zeigt (Drawert 1937).

4. Durch Verschiedenheiten der Lage der IEP der Zellbestandteile (Drawert 1937). Dieser Erklärungsversuch ist sicherlich zutreffend und gilt in unserem Falle als bewiesen. Durch die Verschiebung des IEP bei jungen Zellen ist sogar gegenüber basischen Farbstoffen das entgegengesetzte Resultat einer zonalen Färbung bei jungen Blättern erreichbar. Färbt man im Bereich des Neutralpunktes, so weisen die Zellen der Dauerzone eine schwache Membranfärbung, die Zellen der Streckungzsone aber eine starke Plasmafärbung auf.

Die Unfärbbarkeit der Streckungszone besteht sonach für saure Farbstoffe prinzipiell nicht, wenn der Farbstoff die Membran und die Plasmagrenzschicht passieren kann.

VI. Die Wanderung des Fluoreszeinkaliums im *Helodea*-Blatt.

1. Methodik.

Aus einer mit doppelt destilliertem Wasser hergestellten Fluoreszeinkaliumlösung (1:100) stellte ich eine 5%ige Gelatine her, die in Petrischalen in dünnen Platten für die Versuche bereitlag. Aus den Gelatineplatten wurden kleine Plättchen herausgestochen und auf die Oberseite von *Helodea densa*-Blättchen aufgelegt, die vorher zwischen Filterpapier sorgfältig unter Vermeidung von Druckbeschädigungen oberflächlich abgetrocknet wurden. Die Gelatineauflage erfolgte bei den Grundversuchen oberseitig in der Mitte des Blättchens, wenn Spitzen- oder Basisauflagen angewandt wurden, ist das besonders vermerkt. Das ganze Präparat wurde dann mit einigen Tropfen Paraffinöl zugedeckt und mit einem Deckglas versehen. Als Paraffinöl verwandte ich reinstes, möglichst fluoreszenzfreies Öl. Als Objektträger wurden Quarzplättchen benutzt (vgl. S. 259).

2. Die topographische Beschreibung des Einwanderungsverlaufes.

In der oben angegebenen Weise wird von einem Blatt mittleren Alters ein Präparat hergestellt und sofort mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskopes untersucht. Dabei ist aber streng darauf zu achten, daß ein und dieselbe Stelle des Präparates niemals einer längeren Dauerbestrahlung von mehreren Minuten ausgesetzt wird. Die Lichtstärke des Zeiss-Instrumentes ist so groß, daß nach 6—10 Minuten langer Bestrahlung bereits eine letale Degeneration der Zellen eintritt. Dies kann durch kurz dauernde Untersuchungen und durch ständiges Verschieben des Präparates vollkommen vermieden werden. Zur Demonstration dieser Strahlenschädigung kann man folgenden Versuch anstellen. *Helodea*-Blätter, deren Protoplasten mit einer sauren Fluoreszeinkaliumlösung gut angefärbt wurden, werden bei schwacher Vergrößerung (Objektiv 8×) einer 10 Minuten langen Dauerbestrahlung unterworfen. Anfänglich leuchten die schön gefärbten Protoplasten stark auf. Nach wenigen Minuten beginnt aber die Fluoreszenz an der bestrahlten Stelle abzublassen. (Durch Zuziehen der Blende auf der optischen Bank kann man einen kleineren kreisförmigen Ausschnitt bestrahlen.) Schließlich ist die Fluoreszenz in der bestrahlten Kreisfläche vollständig gelöscht, und die Zellen sind abgestorben. Die beiden Mikrophotogramme Taf. I, *5* und *6* geben uns von einem solchen Versuch ein anschauliches Bild. Aus diesen Befunden müssen wir den Schluß ziehen, daß die Beobachtung des Einwanderungsverlaufes nur mit der allergrößten Vorsicht durchgeführt werden kann.

Stellen wir innerhalb der ersten Minuten nach der Fertigstellung des Präparates auf den Gelatinerand ein, so fällt zunächst die rasche Einwanderung des Farbstoffes in die Membranen der Parenchymzellen der Blattfelder auf. Taf. II, *1* und *2* geben davon ein klares Bild. Der Farbstoff wandert also zunächst lediglich in die Membranen der Parenchymzellen ein und wandert unzweifelhaft durch die Membranen in breiter Front in das Parenchym durch 5—10 Zellreihen weiter. Die Kuppenmembranen scheinen an dieser Wanderung relativ wenig beteiligt zu sein, denn sie zeigen kaum eine Fluoreszenz. Lediglich die Seitenmembranen leuchten im starken Fluoreszenzlicht. Anfangs geht diese Einwanderung rasch, später langsamer vor sich, wobei sich mit zunehmender Entfernung von der Farbstoffquelle eine allmähliche Abnahme der Fluoreszenz einstellt. Das Plasma ist zunächst vollständig ungefärbt, erst nach 20—30 Minuten beginnt es allmählich den durch die Membranen eingewanderten Farbstoff zu speichern.

Neben diesen Vorgängen fesselt aber schon nach 3 Minuten eine weitere auffallende Erscheinung in der Mittelrippe die Aufmerksamkeit. Innerhalb der ersten Minute zeigt die aus langgestreckten Zellen bestehende Mittelrippe kein abweichendes Verhalten gegenüber den Parenchymzellen. Nun beginnt aber der Farbstoff mit großer Geschwindigkeit von der Auflagestelle der Gelatine aus zur Blattspitze hin in der Mittelrippe zu wandern. Taf. II, *4*, *5*, *6* geben uns von diesem Vorgang eine Vorstellung. Dabei wandert das Fluoreszein nicht in den epidermalen Zellen, sondern lediglich in den Membranen eines subepidermalen Zellenzuges, der sehr schmal ist und meist genau zwischen den mittleren schmalen Epidermiszellen liegt. Stellt man also die vorderste Wanderfront in der Mittelrippe ein, so ist zunächst nur eine Membranfärbung dieses subepidermalen Zellenzuges zu erkennen. Bald aber tritt der Farbstoff auch in die Membranen der epidermalen Mittelrippenzellen über, so daß unterhalb der Wanderfront auch die Membranen dieser Zellen stark zu leuchten beginnen. Wenige Minuten nach Beginn dieses „Mittelrippenphänomens" ist meist die Blattspitze bereits erreicht und dann beginnt der Farbstoff in die Membranen der angrenzenden Parenchymzellen langsam auszuwandern, wobei durch weiteren Farbstoffnachschub die Fluoreszenz der Membranen der Mittelrippenzellen immer stärker wird. Taf. II, *7* zeigt uns im Vergleich zu *8* deutlich diesen Vorgang. Bei *7* ist der gefärbte subepidermale Zellenzug deutlich zu erkennen, der Farbstoff beginnt in die oberflächlichen und seitlichen Zellenmembranen deutlich einzuwandern. Bei *8* ist die Fluoreszenz der subepidermalen Zellen durch weiteren Nachschub bedeutend verstärkt, und die Auswanderung in das Blattfeldparenchym zu beiden Seiten ist mit großer Deutlichkeit zu erkennen. Dabei ist überall nur eine Membranfärbung festzustellen. Unterhalb der Blattspitze geht die Auswanderung in das seitliche Parenchym durch eine kürzere Strecke hindurch schneller vor sich, so, daß dort weitere Strecken des Blattfeldparenchyms links und rechts von der Mittelrippe auffallend gefärbt erscheinen (vgl. Taf. II, *9*).

Nach der Blattbasis zu tritt das Mittelrippenphänomen bei älteren Blättern erst später und etwas langsamer auf, die Einwanderung des Farbstoffes durch die Mittelrippe und von dort in das beiderseitige Blattfeldparenchym erfolgt aber in der gleichen Weise wie nach der Blattspitze hin. Junge Blätter dagegen zeigen das Mittelrippenphänomen nur nach der Blattspitze zu, niemals aber nach der Blattbasis, worauf noch näher eingegangen werden soll.

Alle diese Vorgänge spielen sich innerhalb der ersten 15 Minuten nach der Fertigstellung des Präparates ab. An älteren Blättern ist dann das Parenchym in der Nähe der Gelatine auf eine größere Strecke hin bereits durchwandert, wobei lediglich die Membranen die Wanderbahn darstellen. Die Mittelrippe ist dann außerordentlich stark nach beiden Seiten hin gefärbt, und von ihr aus breitet sich der Farbstoff durch die Membranen in das beiderseitige Blattfeldparenchym langsam aus. Nach 30 Minuten beginnen erst die Parenchymzellen den Farbstoff in ihren Protoplasten zu speichern. Dann verschwindet die Membranfluoreszenz vollständig, und in allen Zellen ist schließlich der Farbstoff nur in den Plasmen gespeichert. Läßt man ein solches Präparat 10—12 Stunden liegen, so ist schließlich das ganze Blatt gleichmäßig mit dem Farbstoff angefärbt. Ob dann die Weiterwanderung in den Membranen oder in den Plasmen erfolgt, soll zunächst unentschieden bleiben.

3. Die Wanderung im oberseitigen Parenchym des Blattfeldes.

a) Die Einwanderung des Fluoreszeinkaliums in alte Parenchymzellen.

Die oberseitigen Parenchymzellen alter Blätter und die der apikalen Dauerzone junger Blätter zeichnen sich dadurch aus, daß die Einwanderung des Fluoreszeins innerhalb der ersten 20 Minuten ausschließlich durch die Zellmembranen vor sich geht, was durch die beiden Mikrophotogramme Taf. II, *1* und *2* belegt ist. Untersucht man diese Membranen in der Nähe der Gelatine nach der erfolgten Einwanderung im Fluoreszenzmikroskop bei stärkerer Vergrößerung, so ist eine gleichmäßige Durchfärbung des ganzen Membranquerschnittes zu beobachten.

Die Analyse der Fluoreszeinspeicherung dieser Zellen hat uns klar die Tatsache ergeben, daß oberhalb von pH 5 die Protoplasten den Farbstoff nur nach längerer Färbedauer zu speichern vermögen. Es tritt vielmehr eine deutliche Membranfärbung auf, die mit der Einwanderungsfärbung identisch ist. Die Azidität der Imbibitionsflüssigkeit der Membranen muß wohl um den Neutralpunkt herum liegen, da ja die Blätter direkt aus ihrer schwach alkalischen Umgebung vor dem Versuch entnommen wurden. Die Möglichkeit einer raschen Farbstoffadsorption durch die Plasmen ausgewachsener Parenchymzellen fehlt also vollständig. Erst durch dieses Fehlen der adsorptiven Fähigkeit der Protoplasten ist eine bloße Membranwanderung des Farbstoffes auf weitere Strecken hin überhaupt verständlich. So wie bei den Farbbadversuchen beginnen die Protoplasten erst nach längerer Zeit das Fluoreszein langsam zu speichern, was nach 30 Minuten beobachtet werden

kann. Dann können sich die Membranen vollständig entfärben, so daß nur mehr die Protoplasten deutlich gefärbt erscheinen.

Es erhebt sich nun die Frage, ob die Weiterwanderung des Farbstoffes im Laufe der nächsten Stunden in den Membranen oder durch die Protoplasten vor sich geht. Bei *Allium* konnte ich diese Frage nicht eindeutig entscheiden, da die Protoplasten der Epidermiszellen ein wesentlich stärkeres Speicherungsvermögen für den Farbstoff besitzen als die der ausgewachsenen *Helodea*-Zellen.

Untersucht man nach 1 Stunde die vorderste Einwanderungsfront im oberseitigen Blattparenchym, so ist in allen Fällen eine schwache Membranfärbung aber noch keine Plasmafärbung zu beobachten. In der vordersten Front wandert das Fluoreszein also zweifellos nur in den Membranen weiter. Die der Gelatine näher gelegenen Zellen zeigen dagegen gleichzeitig nur eine reine Plasmafärbung, während die unmittelbar an der Grenze der Gelatine liegenden Zellen neben einer sehr starken Plasmafärbung noch eine starke Membranfärbung aufweisen. Die Verhältnisse sind demnach nur so zu deuten, daß der Farbstoff sich in allen Zellen prinzipiell in der Membran weiterbewegt. Die gelatinenahen Zellen zeigen bereits eine Sättigung ihrer Protoplasten mit dem Farbstoff, so daß es sekundär (die Zellmembranen waren inzwischen schon einmal entfärbt) zu einer abermaligen sichtbaren Membranfärbung kommt. Die entfernteren Zellen dagegen können den Farbstoff noch aus der Membran wegadsorbieren, so daß die geringen Farbstoffmengen, die die Membranen noch passieren, nicht mehr fluoreszenzoptisch nachweisbar sind. Erst in der vordersten Wanderfront können die Plasmen noch nicht den Farbstoff so schnell adsorbieren, als er zuwandert, und es ist gleich wie bei Beginn des Versuches an den gelatinenahen Zellen eine reine Membranfärbung feststellbar.

In dieser Auslegung der Befunde werde ich noch durch die Tatsache bestärkt, daß fluoreszierende Substanzen, wie Äskulin und Berberinsulfat, die durch alte Protoplasten selbst nach Stunden nur wenig oder überhaupt nicht gespeichert werden, auch stundenlang lediglich durch die Parenchymzellenmembranen in das Blatt durch weite Strecken einwandern können.

b) Die Einwanderung des Fluoreszeinkaliums in junge Parenchymzellen.

Die Parenchymzellen der Wachstumszone junger Blätter verhalten sich beim Einwanderungsversuch gegenüber den alten Zellen ganz verschieden. Belegen wir etwa ein junges Blatt aus der Knospe von

Helodea densa mit einem Farbstoffgelatineplättchen so, daß apikalwärts der Gelatinerand in die Dauerzone, basalwärts aber in die Streckungszone reicht, so ist die apikale Einwanderung des Farbstoffes in die Parenchymzellen der Dauerzone eine reine Membranwanderung, die dem oben beschriebenen Typus entspricht. Basalwärts aber ist von einer Wanderung des Farbstoffes durch die Membranen nichts zu sehen. Das Fluoreszein erscheint sofort im Plasma der jungen Parenchymzellen und wandert von Zelle zu Zelle unzweifelhaft im Plasma weiter (vgl. Taf. II, Fig. 3). Bemerkenswert ist der Unterschied in der Fluoreszenzfarbe. Die gefärbten Membranen der alten Zellen leuchten im goldgelben Fluoreszenzlicht. Die Plasmen der jungen Zellen dagegen leuchten stark grünlichgelb. Hier handelt es sich um einen prinzipiellen Unterschied in der Fluoreszenzfarbe zwischen Membran- und Plasmafärbung, der zur Klärung wesentlicher Fragen, die weiter unten behandelt werden sollen, das Hilfsmittel zur Entscheidung gab. Die Geschwindigkeit der Einwanderung durch das Plasma ist dieselbe wie die durch die Membranen.

Die Speicherungsversuche im Farbbad lehrten uns, daß die Parenchymzellen der Streckungszone den Farbstoff auch in der Nähe des Neutralpunktes kräftig in ihrem Plasma zu speichern vermögen. Nachdem wir die Aziditätslage der Imbibitionsflüssigkeit der Membranen um den Neutralpunkt herum annehmen müssen, stimmt also das Verhalten junger Zellen beim Einwanderungsversuch vollkommen mit den Befunden der Speicherungsanalyse überein.

Selbst wenn der Farbstoff primär in den Membranen wandern würde, so könnten wir ihn gar nicht fluoreszenzoptisch nachweisen, da die Adsorptionskraft der Protoplasten infolge der anderen Lage des IEP so groß ist, daß der Farbstoff den Membranen sofort entzogen wird.

Im Parenchym der Streckungszone ist demnach nur eine Wanderung des Farbstoffes in den Protoplasten nachzuweisen. Tafel II, Fig. 3 zeigt uns diesen Vorgang. Die ungefärbten Membranen sind deutlich sichtbar. Ob diese Plasmawanderung vollkommen dem von Schumacher (1936) beschriebenen Typus entspricht oder ob der primäre Wanderweg doch die Membran ist, kann technisch nicht entschieden werden. Es ist immerhin bemerkenswert, daß die Farbstoffe Äskulin und Berberinsulfat, welche von den jungen Protoplasten wesentlich langsamer adsorbiert werden können, auch in den jungen Parenchymzellen primär durch die Membranen weiterwandern.

c) Die experimentelle Änderung der Plasmaadsorption und ihre Auswirkung auf das Wanderphänomen in Parenchymzellen.

Auf Grund unserer Ergebnisse der Analyse der C_H-Abhängigkeit der Fluoreszeinspeicherung der Protoplasten war es naheliegend, die in den vorhergehenden Abschnitten vertretene Theorie der Abhängigkeit der Membranwanderung von der Plasmaadsorption experimentell zu prüfen. Ältere Blätter von *Helodea densa* wurden der Kultur entnommen und in kleinen Schälchen mit sauren Puffergemischen im pH-Bereich 2—4,6 (vgl. Tabelle 2, S. 255) 5 Minuten lang vorbehandelt. Dadurch erreichte ich eine Verschiebung der ursprünglichen Aziditätslage der Imbibitionsflüssigkeit der Membranen und der Plasmagrenzschichten. Die Blätter wurden dann dem Puffer entnommen, zwischen Filterpapier abgetrocknet und mit Farbstoffgelatine bedeckt.

Die Untersuchung im Fluoreszenzmikroskop brachte in allen Fällen das klare Ergebnis, daß nunmehr auch im alten Parenchymgewebe der Farbstoff sofort in die Protoplasten der gelatinenahen Zellen einwandert und in derselben Weise, wie dies für junge Zellen beschrieben wurde, lediglich im Plasma der Zellen weiterwandert. Eine Membranfärbung konnte an derartig vorbehandelten Geweben niemals festgestellt werden. Durch die Azidifizierung ist das Adsorptionsmaximum der Protoplasten alter Zellen erreicht worden, so daß es zu keiner Membranwanderung mehr kommen kann, da die Plasmen den Farbstoff sofort kräftig speichern können. Es gelingt sonach alten Zellen das Verhalten der jungen aufzuzwingen.

Für die Bewertung dieser Versuche ist es wichtig zu wissen, ob durch die Vorbehandlung mit sauren Puffergemischen die Zellen geschädigt wurden. Die beobachtbare Plasmaströmung sowie die normale Chlorophyllfluoreszenz lassen eine letale Schädigung als ausgeschlossen erscheinen. Noch eindeutiger läßt sich aber die nichtpathologische Natur der Umschaltung des Wanderweges dadurch nachweisen, daß Blätter, die 5 Minuten im sauren Puffer gelegen haben, nunmehr in einen schwach alkalischen Puffer auf 5 Minuten übertragen wurden (pH 7,58). Wird das Wanderungsexperiment an solchen alkalinisierten Blättern durchgeführt, so geht die Farbstoffwanderung wieder ausschließlich in den Membranen der Parenchymzellen vor sich. Es handelt sich sonach um einen Eingriff, der vollkommen reversibel ist. Solche Umschaltungsexperimente können an ein und demselben Blatt zum wiederholten Male durchgeführt werden, ohne daß die Vitalität der Zellen leiden würde.

Durch geeignete Regulation der adsorptiven Fähigkeiten des Plasmas, läßt sich sonach eine Umstimmung der Fluoreszeinwanderung, wie sie

in der Natur an verschieden alten Zellen zu beobachten ist, innerhalb vitaler Grenzen durchführen. Die Theorie über die Beziehung der Membranwanderung zur Plasmaadsorption für den verwandten Farbstoff ist sonach experimentell sichergestellt.

d) Hat die Wasserstoffionenkonzentration der Farbstoffgelatine einen Einfluß?

Ich habe zahlreiche Versuche mit gepufferter Farbgelatine im sauren, neutralen und alkalischen Bereich durchgeführt. Alle Versuche ergaben dasselbe Resultat, so daß wir sagen können, daß die Wasserstoffionenkonzentration der aufgelegten Farbstoffgelatine keinen Einfluß auf den Wanderungsvorgang ausübt.

e) Die Wirkung einer Äthernarkose auf die Einwanderung des Fluoreszeins in Parenchymzellen.

Ausgewachsene *Helodea*-Blätter wurden mit Ätherwasser, dessen Konzentration infolge der unvermeidlichen Ungenauigkeiten hier nicht angegeben werden soll, verschieden lange Zeit hindurch vorbehandelt, dann abgetrocknet und mit Farbstoffgelatine bedeckt. Gleichzeitig wurden Blätter mit 1 Mol KNO_3 plasmolysiert, um letale Schädigungen feststellen zu können.

Dauer der Vorbehandlung 1 Minute:

Die Einwanderung des Fluoreszeins in das Parenchym geht normal durch die Membranen vor sich. Eine Plasmolyse mit 1 Mol KNO_3 gibt normale, sich langsam abrundende Plasmolysebilder.

Dauer der Vorbehandlung $2^1/_2$ Minuten.

Die Zellwände in unmittelbarer Gelatinenähe zeigen eine leichte Anfärbung. Eine Weiterwanderung in den Membranen, wie bei unbehandelten Zellen, erfolgt jedoch nicht. Im Sinne der Befunde Webers (1924) erfolgt im plasmolytischen Experiment eine überaus schnelle Abrundung der Protoplasten.

Dauer der Vorbehandlung 4 Minuten.

Auch in unmittelbarer Gelatinenähe ist keine Membranfärbung mehr zu beobachten. Das Fluoreszein diffundiert diffus in die abgestorbenen Zellen langsam ein. Plasmolyse ist keine mehr zu erzielen.

Diese Versuche zeigen, daß eine innerhalb der vitalen Grenzen liegende Äthernarkose die Wanderung des Fluoreszeins in den Zellmembranen eindeutig hemmt. Es war von großem Interesse, durch geeignete Versuchsanstellungen den Beweis zu erbringen, daß nach Abklingen der Narkose wieder eine Membranwanderung möglich ist.

Helodea-Blätter wurden 2—3 Minuten lang mit dem Ätherwasser behandelt und dann, nachdem Kontrollpräparate eine Hemmung der Fluoreszeinwanderung ergeben haben, auf 2 Stunden in Leitungswasser gelegt. Mit diesen Blättern führte ich Wanderungsversuche durch. Einzelne Blätter zeigten letale Schädigungen der Parenchymzellen. In vielen Fällen jedoch waren die Parenchymzellen am Leben geblieben und ergaben dann das normale Wanderungsbild.

Wir müssen sonach annehmen, daß die Hemmung der Fluoreszeinwanderung durch die Äthernarkose reversibel ist.

Die Narkoseversuche zeigen uns, daß der lebendige Protoplast bei der Membranwanderung offenbar eine große Rolle spielt. Die im nächsten Abschnitt geschilderten Versuche an plasmolysierten Geweben werden diesen Schluß noch bestärken.

f) Die Hemmung der Fluoreszeinwanderung durch Plasmolyse.

Durch die Plasmolyse ist es möglich, den Zusammenhang zwischen Plasma und Zellmembran zu stören. Ich konnte an plasmolysierten Zellen prüfen, ob dieser Zusammenhang für das Zustandekommen der Wanderung durch die Membranen notwendig ist.

Ausgewachsene *Helodea*-Blätter wurden mit einer 1 molaren Traubenzuckerlösung (hergestellt mit Leitungswasser pH 7, 9) so lange behandelt, bis der Endplasmolysegrad erreicht wurde. Dann wurden die Blätter abgetrocknet und mit der Farbstoffgelatine belegt.

Eine Einwanderung des Fluoreszeins durch die Membranen konnte niemals beobachtet werden. Auch die Plasmen waren selbst nach längerer Zeit nicht befähigt, den Farbstoff zu speichern. Das Fluoreszeinkalium beginnt nach einiger Zeit diffus in das plasmolysierte Gewebe hineinzudiffundieren. Dabei scheint es, als ob ausschließlich die mit dem Plasmolytikum gefüllten extraplasmatischen Räume den Diffusionsweg für den Farbstoff darstellen.

Wir müssen aus diesen eindeutigen Versuchen den Schluß ziehen daß plasmolysierte Zellen nicht befähigt sind, das Fluoreszein in ihren Membranen weiterzuleiten. Es ist vielmehr der ungestörte Zusammenhang des Protoplasten mit der Membran für das Zustandekommen dieser Wanderungserscheinung notwendig.

g) Das Verhalten toter Blätter.

Hier brauche ich mich nur sehr kurz zu fassen. Mit Alkohol, Hitze oder Giften abgetötete Blätter von *Helodea* wurden mit Farbstoffgelatine belegt. In keinem Fall gelang es, eine Membranwanderung

oder Plasmawanderung festzustellen. Der Farbstoff diffundiert diffus von Zelle zu Zelle langsam weiter, ohne an einen Zellbestandteil gebunden zu sein. Das tote Parenchym verhält sich so wie ein mit Wasser gefülltes Kammersystem mit permeablen Wänden.

Auch aus diesen Versuchen ersehen wir klar die Tatsache, daß die Membran- und Plasmawanderung nur am lebendigen Objekt auftritt.

h) Versuche mit anderen fluoreszierenden Substanzen.

Im Anschluß an die Arbeit von Döring (1935) habe ich zunächst mit Äskulingelatine dieselben Versuche angestellt.

Fig. 1. Älteres *Helodea*-Blatt (Parenchym der Oberseite) kurze Zeit mit Primulin gefärbt. Die Seitenmembranen fluoreszieren bläulich, die gefärbten Membrankuppen dagegen gelblichgrün.

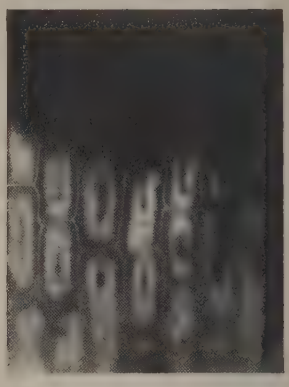


Fig. 2. Die Einwanderung des Primulins in das oberseitige Parenchym des Blattes von *Helodea densa*. Die allmähliche Bildung der Membrankuppen ist deutlich zu erkennen (Hufeisenformen, Ringformen).

Fig. 1 und 2. Perutz-Peromnia-Platten panchromatisch. Belichtungszeit 2 Minuten. Sperrfilter GG 11 (Schott). Objektiv C 20×, Okular 10×, Euphosfilter. Fluoreszenzoptik, Zeiss-Ultraviolettfilter (Schott).

Die Einwanderung in das oberseitige Parenchym alter Blätter erfolgt in derselben Weise durch die Membranen. Das Äskulin wird aber von den ausgewachsenen Protoplasten nur sehr schwach und schwer gespeichert. Die Folge davon ist, daß lediglich auf dem Wege der Membranwanderung das Äskulin im Laufe von 5—8 Stunden durch das ganze Blattfeld einwandert.

Ich sehe in diesem Befund eine weitere Stütze meiner Ansicht von den Beziehungen zwischen Plasmaadsorption und Membranwanderung. Die Parenchymzellen der Streckungszone junger Blätter zeigen bei Verwendung von Äskulingelatine anfänglich innerhalb der ersten 10 Minuten

eine reine Membranwanderung des Farbstoffes. Erst dann beginnen die Protoplasten das Äskulin allmählich zu speichern, wobei es meist gar nicht zu einer vollständigen Entfärbung der Membranen kommt.

Die Beobachtungen mit Berberinsulfat ergaben genau dieselben Ergebnisse wie für das Äskulin. Das Berberinsulfat eignet sich in hervorragender Weise für fluoreszenzmikroskopische Beobachtungen.

Sehr bemerkenswerte Befunde konnte ich mit dem bläulich fluoreszierenden Farbstoff Primulin erzielen. Auch dieser Farbstoff wandert im oberseitigen Parenchym alter Blätter ausschließlich in den Zellmembranen mit relativ großer Geschwindigkeit. Dabei zeigt es sich, daß der Farbstoff zweiphasig ist. Eine bläulich fluoreszierende Phase wandert schneller und ausschließlich in den Seitenmembranen. Nachträglich aber wandert von der Gelatine aus noch eine gröber disperse Phase ein, die gelblich fluoresziert und eine ausgeprägte lokalisierte Kuppenfärbung der Flächenmembranen bildet. Taucht man *Helodea*-Blätter in Primulinlösung ein, so ergibt sich deutlich diese Fluoreszenzmetachromasie. Die gelblich fluoreszierende Phase muß aber auch durch die Seitenmembranen einwandern, denn die Kuppenfärbung beginnt zunächst in der Nähe der Seitenmembranen, so daß sich hufeisenförmige Bilder ergeben. Erst nach einiger Zeit wachsen diese Figuren vollständig zu, so daß eine zusammenhängende Membrankuppenfärbung entsteht. Die Fig. 1 und 2 geben uns von diesen Vorgängen eine Vorstellung.

Ich habe noch folgende Farbstoffe auf ihre Wanderungsfähigkeit in Membranen geprüft: Trypaflavin, Rhodamin 6 G, Sulforhodamin B, Sulforhodamin G, Eosin, Erythrosin und Auramin.

Außer Eosin und Erythrosin ergaben alle Farbstoffe eine schöne Einwanderung durch die Membranen. Das Eosin und Erythrosin wanderte kaum merklich ein, so daß wir in Übereinstimmung mit Schumacher (1933) diese Farbstoffe für Wanderungsversuche als ungeeignet bezeichnen müssen.

4. Das Mittelrippenphänomen.

a) Die anatomischen Grundlagen.

Die Mittelrippe des Blattes von *Helodea densa* zeigt den in Fig. 3 wiedergegebenen Bau im Querschnittsbild.

An der Oberseite erkennen wir 2—3 epidermale Zellreihen, die sich durch ihre besondere Länge und Schmalheit auszeichnen. Daran schließen sich zu beiden Seiten etwas langgestreckte breitere Parenchymzellen an, die zum großzelligen oberseitigen Parenchym den Übergang bilden. Die Unterseite der Mittelrippe wird durch mehrere schmale und langgestreckte epidermale Zellzüge begrenzt. Dazwischen sind zahl-

reiche langgestreckte und schmale Zellen eingelagert, die ein reduziertes Leitbündel darstellen. Differenzierte Xylem- oder Phloem-Elemente sind in der Mittelrippe nicht festzustellen. Alle Zellen besitzen einen lebhaft strömenden Plasmawandbelag, der zahlreiche kleine Plastiden und große spindelförmige Zellkerne enthält.

Untersucht man die Fluoreszeineinwanderung in die Mittelrippe von der Oberseite aus, so kann man leicht feststellen, daß die eigentliche Längsleitung des Farbstoffes in einem Zellenzuge allein erfolgt, der subepidermal genau in der Mitte zwischen den 2—3 schmalen oberseitigen epidermalen Zellzügen gelegen ist. Im Querschnittsbild Fig. 3 ist dieser Zellenzug mit einem Pfeil gekennzeichnet. Von dieser Zellreihe aus breitet sich dann der Farbstoff sekundär allseitig in die Membranen der angrenzenden Zellen aus, was in Tafel II, Fig. 7, 8 photographisch belegt ist.

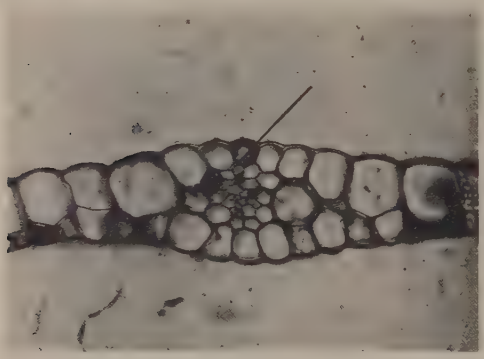


Fig. 3. Querschnitt durch die Mittelrippe des Blattes von *Helodea densa*.

Da diese Zellenreihe oberseitig gelagert ist, kann sie entwicklungsgeschichtlich nur entweder der Leitbündelscheide oder dem Xylem zugeordnet werden, auf keinem Fall aber dem Phloem. Beobachtet man die Einwanderung des Farbstoffes von der Blattunterseite aus, so kann man über die Lokalisation der primären Einwanderung keine klare Aussage machen, da die vielen dazwischenliegenden Zellenzüge das Bild undeutlich machen.

b) Die Lokalisation der primären Farbstoffeinwanderung.

Von großer Wichtigkeit war es, die Frage nach der Lokalisation der primären Farbstoffeinwanderung im subepidermalen Zellenzug durch eingehende Beobachtungen klar zu analysieren.

Das Problem war aus beobachtungstechnischen Gründen nicht leicht zu lösen. Die Konzentration des einwandernden Fluoreszeins war von allem Anfange an in den meisten Fällen so groß, daß durch das starke Aufleuchten des verdeckten Zellenzuges ungefähr dasselbe Phänomen auftrat, wie es bei einer Laterne mit nichtglatten Fenstern

der Fall ist. Auch bei einem solchen Modell ist es für den Beobachter sehr schwierig, eine klare Entscheidung über die Form und Lokalisation der Lichtquelle zu treffen.

Ich habe viele Beobachtungen zur Lösung dieser Kardinalfrage durchgeführt und für das Fluoreszein konnte ich infolge seiner starken Fluoreszenz nur in wenigen Fällen eine wirklich klare Entscheidung treffen. Hier war die Beobachtung der Anfangsstadien der primären Farbstoffeinwanderung entscheidend. Ich konnte in einzelnen Fällen deutlich erkennen, daß auch in dem subepidermalen Zellenzug die rasche Farbstoffeinwanderung lediglich in den Membranen erfolgt. Das Plasma ist dabei vollständig unbeteiligt. Ich würde aber trotzdem zunächst diesem Entscheid mit Mißtrauen begegnet sein, wenn ich nicht mit Hilfe geeigneter Farbstoffe diese Frage völlig eindeutig hätte klären können.

Das Äskulin und besonders das Berberinsulfat zeichnen sich durch eine klare und etwas lichtschwächere Fluoreszenz aus. Die Überstrahlungserscheinungen in der Mittelrippe waren bei Verwendung dieser Farbstoffe längst nicht so stark wie beim Fluoreszein. Man konnte daher in das Innere der Mittelrippe einen klareren Einblick während des Einwanderungsvorganges haben. Dabei ergab sich bei alten Blättern die Tatsache, daß die ungemein rasche primäre Einwanderung des Farbstoffes lediglich in den Längsmembranen des langgestreckten subepidermalen Zellenzuges vor sich geht, so daß zwischen der Einwanderung in das Parenchym und in die Mittelrippe kein prinzipieller Unterschied besteht. Die Weiterausbreitung in die Membranen der benachbarten Zellen ist ja auch nur von dieser Grundlage aus verständlich.

c) Polaritätsfragen, alte Blätter.

Mittlere Gelatineauflage: Das Mittelrippenphänomen tritt nach der Spitze zu innerhalb der ersten 5 Minuten mit großer Sicherheit auf. Die Geschwindigkeit ist recht erheblich. Nach der Basis zu ist immer eine Verzögerung zu bemerken, doch wird auch nach dieser Richtung der Farbstoff in derselben Weise, aber langsamer weitergeleitet. Mitunter war die basale Leitung bei einzelnen Blättern ausgeblieben.

Spitzenauflage: Legt man die Farbstoffgelatine auf die Blattspitze auf, so erfolgt bei alten Blättern nach der Basis zu die Farbstoffwanderung in der ersten Hälfte des Blattes rasch, dann aber mit geringerer Geschwindigkeit.

Basale Auflage: Der Farbstoff durchwandert die ganze Mittelrippe bis zur Spitze. Dabei ist die Anfangsgeschwindigkeit gering, sie nimmt aber in der zweiten Hälfte des Blattes deutlich zu.

d) Polaritätsfragen, junge Blätter aus der Knospe.

Mittlere Auflage: Wird die Gelatine so aufgelegt, daß sie gerade auf das Übergangsgebiet von der Dauerzone zur Streckungszone zu liegen kommt, so ergab sich in allen Experimenten eine ausgesprochene Polarität der Farbstoffwanderung in der Mittelrippe. Nach der Spitze zu tritt das Mittelrippenphänomen besonders schnell und deutlich auf. Die Geschwindigkeiten sind recht erheblich (1,5 mm in der Sekunde). Nach der Basis zu bleibt aber das Mittelrippenphänomen vollständig aus. Erst nach längerer Zeit schreitet dort die Farbe langsam vor. Die Fluoreszenzfarbe ist aber nicht goldgelb, wie sie bei einer typischen Membranfärbung auftritt, sondern diffus grünlichgelb, wie sie für die reine Plasmafärbung charakteristisch ist. Eine nähere Untersuchung lehrt uns auch, daß das Cytoplasma, die Zellkerne und die Plastidenstärke (Schumacher, 1933) stark gefärbt sind. Im Plasma der jungen Mittelrippenzellen erfolgt die Einwanderung sehr langsam und hält mit demselben Vorgang im Parenchym Schritt. Die Membranen zeigen keine Fluoreszenz.

Wir kommen also auf Grund dieser Beobachtungen zum Ergebnis, daß bei jungen Blättern die Mittelrippeneinwanderung in der Dauerzone ausschließlich durch die Membranen erfolgt, gleich wie es bei den alten Blättern der Fall ist. In der Streckungszone ist dagegen infolge der starken Farbstoffadsorption der Protoplasten auch in der Mittelrippe eine Membranwanderung nicht möglich. Der Farbstoff wandert dort basalwärts lediglich langsam im Protoplasten weiter, so daß das Mittelrippenphänomen ausbleibt. Dadurch findet auch die immer wieder zu beobachtende Polarität der Erscheinung bei jungen Blättern ihre hinreichende Erklärung.

Spitzenauflage: Innerhalb der ersten 2 Minuten tritt eine überaus rasche, basale Wanderung des Farbstoffes durch die Dauerzone ein. Diese erfolgt mit gelblicher Fluoreszenz in den Membranen. Wird aber die Streckungszone des Blattes erreicht, so wird die Wanderung gehemmt. Die Fluoreszenz wird plötzlich grünlichgelb diffus. Die Zone der erhöhten Adsorptionsfähigkeit der Plasmen ist erreicht. Eine Weiterwanderung erfolgt nur sehr langsam im Plasma.

Basale Auflage: Innerhalb der ersten halben Minute nach dem Auflegen der Gelatine schießt das Fluoreszein im subepidermalen Zellenzug eine weite Strecke in der Wachstumszone hoch. Die Geschwindigkeit ist so groß, daß eine Messung ausgeschlossen wäre. Die Menge des so rasch einwandernden Farbstoffes ist aber überaus gering, so daß eine Überstrahlung ausbleibt und die Einzelheiten der Lokalisierung deutlich

hervortreten. Lediglich die Zellwände (Längs- und Querwände) des subepidermalen Zellenzuges sind schwach, aber klar gefärbt. Innerhalb der 2. und 3. Minute verschwindet aber diese Membranfärbung ebenso schnell, wie sie entstanden ist. Zuerst entfärben sich die Längswände, dann erst die Querwände. Der Farbstoff wird unzweifelhaft vom Plasma rasch wieder adsorbiert. Eine ungemein schwache bläulich-gelbgrüne Fluoreszenz bleibt noch einige Minuten zu beobachten, denn verschwindet auch diese (wohl infolge der Verteilung des Farbstoffes), denn jeder Nachschub unterbleibt vollständig. Nach etwa 5—7 Minuten sieht das Präparat so aus, als ob überhaupt keine Einwanderung erfolgt wäre.

Es ist recht eigenartig, daß von der Basis nach der Spitze zu mit großer Regelmäßigkeit diese Erscheinung zu beobachten war. Umgekehrt aber trat sie trotz eifrigen Suchens niemals auf.

Eine Polarität besteht also im jungen und alten Blatte sicherlich. Stets ist die Einwanderung apikal gefördert. Bei jungen Blättern ist die Polarität infolge der differenten Eigenschaften der jungen und alten Plasmen stark ausgeprägt. Im alten Blatt jedoch nur zeitlich nachzuweisen.

e) Führt eine unterseitige Gelatineauflage zu anderen Ergebnissen?

Ich habe zahlreiche Versuche auch mit unterseitiger Gelatineauflage durchgeführt. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die beschriebenen Erscheinungen in genau derselben Weise zu beobachten waren. Der Beginn des Mittelrippenphänomens war aus leicht verständlichen anatomischen Gründen verzögert.

f) Die Hemmung des Mittelrippenphänomens durch Azidifizierung.

In gleicher Weise, wie ich bei Parenchymzellen alter Blätter durch eine künstliche Azidifizierung die Membranwanderung hemmen konnte, versuchte ich nunmehr durch diesen Eingriff auch die Adsorptionsfähigkeit der Mittelrippenprotoplasten alter Blätter für den Farbstoff so zu steigern, daß eine Membranwanderung unterbunden wurde.

Die Vorbehandlung mit sauren Puffergemischen pH 2,8 mußte für diese Versuche etwas länger dauern, um zum Erfolg zu führen. 20—30 Minuten wurden die alten Blätter im sauren Puffer belassen, dann abgetrocknet und mit Gelatine belegt (Mittelauflage). Genau so wie im Parenchym erfolgt nunmehr in den gelatinenahen Zellen der Mittelrippe rasch eine deutliche Anfärbung des Zytoplasmas, der Kerne und der autochtonen Stärkekörner. Ein Mittelrippenphänomen blieb

vollständig aus, da im Plasma wie bei jungen Blatteilen die Wanderung recht langsam vor sich geht. Die typische, grünlichgelbe diffuse Fluoreszenz trat in allen Versuchen auf.

Sonach hemmt eine ausreichende Azidifizierung der Mittelrippenzellen die Membranwanderung vollständig. Die Kontrolle der Blätter ergab keine Schädigung der Zellen. Plasmaströmung war gut zu sehen. Zur Prüfung der Reversibilität der Hemmung habe ich Blätter, die mit dem sauren Puffer vorbehandelt waren, 30 Minuten lang mit einem schwach alkalischen Puffer behandelt (pH 7,64). Der Wanderungsversuch an solchen Blättern ergab das altgewohnte Bild einer raschen, apikal geförderten Einwanderung des Fluoreszeins durch die Membranen des subepidermalen Zellenstranges. Die Reversibilität der Hemmung durch Azidifizierung ist also experimentell erwiesen. Die Beziehungen zwischen Membranwanderung und Plasmaadsorption treten auch beim Mittelrippenphänomen mit derselben Klarheit hervor wie bei der Wanderung im Parenchym.

g) Die Hemmung durch Narkose.

Methodisch ging ich in zweierlei Weise vor:

1. Versuche an total narkotisierten Blättern.
2. Versuche mit lokaler Narkose.

ad 1. Die alten Blätter wurden mit Ätherwasser vorbehandelt und dann nach Abtrocknung möglichst rasch mit der Farbstoffgelatine belegt und beobachtet. Kontrollblätter wurden mit 1 Mol KNO_3 plasmolysiert, um festzustellen, ob die Zellen der Mittelrippe noch am Leben geblieben sind. Die Erfahrung von Moder (1932) konnte ich auch für *Helodea densa* bestätigen, daß die Zellen der Mittelrippe gegenüber Ätherwasser erheblich resistenter sind als die Zellen des Blattfeldes.

Vorbehandlung 1 Minute: Das Mittelrippenphänomen tritt wie bei unbehandelten Kontrollen auf. Die Plasmolysen sind normal.

Vorbehandlung 3 Minuten: Entweder tritt die Wanderung des Farbstoffes in der Mittelrippe stark verzögert oder überhaupt nicht ein. Die Protoplasten runden sich bei Plasmolyse überaus rasch ab.

Vorbehandlung 4 Minuten: Das Mittelrippenphänomen blieb immer aus. Die Protoplasten der Mittelrippenzellen runden sich bei Plasmolyse überaus rasch ab. Die Zellen der Mittelrippe waren also wohl narkotisiert, aber nicht letal geschädigt. Die Zellen des Blattfeldparenchyms sind gegen Ätherwasser viel empfindlicher und sind bereits tot.

Eine Äthernarkose hemmt sonach die Wanderung des Fluoreszeins in der Mittelrippe genau so wie im Parenchym.

ad 2. Eine partielle Narkose erzielte ich dadurch, daß eine Paste aus Wollfett, Äther und Wasser lokalisiert als dünner Streifen auf das Blatt gelegt wurde; basalwärts legte ich die Gelatine auf. Durch diese Versuchsanordnung war es möglich, die Entscheidung zu treffen, ob eine lokal narkotisierte Stelle der Mittelrippe durchwandert werden kann, wobei ja die übrigen Blattpartien vollkommen unbeeinflußt waren.

Die Einwanderung durch die Mittelrippe beginnt bei solchen Präparaten völlig normal. Sie erfolgt aber nur bis zu der mit der Ätherpaste belegten Stelle. Eine Überschreitung erwies sich als unmöglich. Nachträgliche Untersuchungen an solchen Blättern ergaben keine letale Schädigung der Mittelrippenzellen durch die Paste.

Auch die Versuche mit lokaler Narkose bestätigen den Befund, daß eine Äthernarkose noch intra vitam den Wanderungsvorgang in den Membranen zu hemmen vermag.

h) Die Hemmung durch Plasmolyse.

Auch diese Versuche habe ich mit einer doppelten Methodik durchgeführt.

1. Versuche an total plasmolysierten Blättern.
2. Versuche an partiell plasmolysierten Blättern.

ad 1. Ausgewachsene Blätter von *Helodea densa* wurden mit einer 1 molaren Traubenzuckerlösung (mit Leitungswasser hergestellt, pH 7,9) bis zur Erreichung des Endplasmolysegrades plasmolysiert. Die mikroskopische Untersuchung ergab eine perfekte Plasmolyse aller Mittelrippenzellen. Dann wurde das Blatt sorgfältig abgetrocknet und in der üblichen Weise mit der Farbstoffgelatine belegt. Eine Einwanderung des Farbstoffes in die Mittelrippe blieb in allen Fällen vollkommen aus.

ad 2. Es war methodisch ungemein reizvoll, an solchen Blättern zu experimentieren, deren Zellen partiell plasmolysiert waren. Dazu waren aber methodische Vorarbeiten nötig, die zunächst beschrieben sein sollen.

Ich entwickelte zu diesem Zweck das Verfahren einer Pastenplasmolyse. 5 g einer gesättigten Traubenzuckerlösung und 5 g reinstes Wollfett wurden zu einer Paste (wie es Laibach für die Herstellung seiner Wuchsstoffpasten empfiehlt) verrührt. Die Wirkung einer derartigen Pastenauflage habe ich nun an vorher abgetrockneten Blättern unter Paraffinöl genau untersucht.

Innerhalb der ersten 4 Minuten wird das Parenchym, das unmittelbar mit der Paste in Berührung ist, stark plasmolysiert. Die Zellen der Mittelrippe zeigen zunächst eine gut ausgeprägte Zytorrhyse.

Nach 10 Minuten ist aber auch in diesen Zellen eine deutliche plasmolytische Abhebung der Protoplasten nachzuweisen.

Von großem Interesse ist aber die Beobachtung, daß durch eine solche Pastenauflage nicht nur die unmittelbar belegten Gewebestellen plasmolysiert werden. Die Plasmolysierung schreitet relativ rasch innerhalb des Gewebes weiter, so daß nach 20 Minuten auch bereits entfernter gelegene Gewebsteile stark plasmolysiert sind. Im Parenchym geht dieses Weitergreifen der Plasmolyse langsamer vor sich als in der Mittelrippe. Der Zucker muß offenbar auch auf dem Wege der Membranen in das Gewebe einwandern können.

Eine nähere Bearbeitung dieser wichtigen Erscheinungen will ich in allernächster Zeit durchführen.

Nach diesen Vorarbeiten konnte nunmehr an die Durchführung von Wanderungsversuchen herangegangen werden. Ein Pastenstreifen wurde auf das abgetrocknete Blatt im oberen Blattdrittel quer aufgelegt. Basalwärts in einiger Entfernung wurde dann ein Gelatineplättchen aufgelegt, das Präparat mit Paraffinöl abgeschlossen und im Fluoreszenzmikroskop untersucht. War die Entfernung zwischen Farbstoffquelle und Plasmolysepaste gering und trat die Einwanderung mit großer Geschwindigkeit auf, so konnte die pastenbelegte Stelle durch den Farbstoff glatt überschritten werden. Dann waren die Mittelrippenzellen noch nicht plasmolysiert, sondern sie zeigten nur Zytorrhysen. Traf aber der Fluoreszeinstrom erst nach 8—10 Minuten auf die pastenbelegte Stelle, so war schon eine Plasmolyse der Mittelrippenzellen eingetreten, und eine Überschreitung trat nicht mehr auf.

Versuche derselben Art führte ich mit einer hochkonzentrierten, aus einer 3 molaren KNO_3-Lösung hergestellten Plasmolysepaste durch. Das Kaliumnitrat erwies sich insofern als geeigneter für solche Plasmolyseversuche, als niemals eine Zytorrhyse eintrat, sondern immer die Plasmolyse innerhalb der ersten Minuten klar nachzuweisen war. Niemals konnte das Fluoreszein eine solche partiell plasmolysierte Stelle überschreiten.

Ich versuchte noch, mit geringer konzentrierten Pasten lokale Plasmolysen hervorzurufen. Eine 1:1 Paste aus einer 1 molaren KNO_3-Lösung ergab keine Plasmolyse innerhalb der ersten 10 Minuten. Die bestrichenen Stellen konnten dann ohne Hemmung vom Farbstoff überschritten werden. Es war also nicht das Salz, welches die Hemmung bewirkte, sondern lediglich die Loslösung des Zusammenhanges zwischen Protoplast und Membran, die eine Weiterwanderung unmöglich machte.

Durch diese Versuchsreihen können wir sonach die an Parenchymzellen gemachten Erfahrungen bestätigen.

i) Hemmung durch partielle Tötung.

Durch Knick- und Stichwunden wurde die Mittelrippe im oberen Blattdrittel partiell geschädigt. Die Wanderungsversuche an solchen Blättern ergaben eine Hemmung an der beschädigten Stelle.

Vollkommen abgetötete Blätter (alkoholfixierte und vergiftete Blätter) ergaben niemals eine Farbstoffeinwanderung durch die Membranen der Mittelrippe.

Das Mittelrippenphänomen ist also durchaus an das ungestörte Leben der Gewebe gebunden.

j) Die Geschwindigkeit der Fluoreszeinwanderung im *Helodea*-Blatt.

Die Geschwindigkeit der Parenchymeinwanderung ist außerordentlich schwer zu messen. Es fällt dem Beobachter schwer, bei der allmählichen Abnahme der Fluoreszenz irgendwo meßbare Grenzen zu finden. Innerhalb der ersten Minuten ist die Wanderungsgeschwindigkeit in den Zellwänden der Parenchymzellen 0,1—0,15 mm pro Minute. In jungen Blättern ist die Geschwindigkeit immer etwas größer als in alten Blättern.

Eine Messung der Wanderungsgeschwindigkeit in der Mittelrippe ergab so verschiedene Resultate, daß ein Mittelwert nicht gegeben werden kann. Junge Blätter erreichen in ihrer Dauerzone die Höchstgeschwindigkeit, die sich messend unter dem Mikroskop gar nicht mehr verfolgen ließ. Versuche ergaben eine noch meßbare Geschwindigkeit von 1,5 mm in der Sekunde. Der Farbstoff schießt förmlich hoch. Ältere Blätter geben sehr schwankende Resultate. Doch werden auch hier noch 0,5 mm in der Sekunde meist erreicht. Ich habe den Eindruck, daß trotz der einigermaßen konstanten Zimmertemperatur, bei der ich arbeitete (20° C), nicht alle Faktoren, die die Geschwindigkeit der Wanderung beeinflussen können, klar erfaßt wurden. Die Diskussion wird uns diese Tatsache noch näher vor Augen führen.

Aus diesem Grunde sei vorerst auf genauere Geschwindigkeitsangaben statistischer Natur verzichtet.

k) Versuche mit anderen fluoreszierenden Farbstoffen.

Für die Reproduktion des Mittelrippenphänomens eigneten sich besonders gut das Äskulin und das Berberinsulfat. Über die Vorzüge dieser Farbstoffe habe ich schon oben berichtet.

Weitere positive Erfolge konnte ich noch mit folgenden Farbstoffen erzielen: Primulin, Rhodamin 6 G, Sulforhodamin B, Sulforhodamin G.

Weniger deutliche Ergebnisse gaben: Trypaflavin, Eosin, Auramin. Keine Einwanderung dagegen konnte ich mit dem Erythrosin erzielen. Die Untersuchung weiterer Stoffe ist geplant.

VII. Diskussion.

1. Die Eigenschaften des Kaliumfluoreszeins.

Das Kaliumsalz des Fluoreszeins ist ein saurer Farbstoff. Im dissoziierten Zustande sind demnach die Anionen gefärbt. Die Prüfung der Diffusibilität in Gelatine ergab, daß das Fluoreszeinkalium im Vergleich zu Eosin und Erythrosin wesentlich schneller zu diffundieren vermag. Elektrophoretische Versuche bezeugen klar den sauren Charakter des Farbstoffes, denn er wandert mit großer Geschwindigkeit zum positiven Pol (Anode). Ich habe fernerhin noch die Möglichkeit einer Umladung geprüft, indem ich in sauren und alkalischen Lösungen elektrophoretische Versuche durchführte. Die anodische Wanderungsrichtung wird immer beibehalten. Demnach ist eine Elektroadsorption des Farbstoffes nur an positiv geladenen Oberflächen zu erwarten. Der Farbstoff ist sehr gut wasserlöslich, aber völlig unlöslich in Olivenöl. Die Fähigkeit, mit Gerbstoffen unlösliche Tannate zu bilden, fehlt ihm vollends.

Die physiologische Wirkung des Farbstoffes wurde schon zu wiederholten Malen untersucht. Von allen photodynamisch wirksamen Farben ist nach den Angaben von Tappeiner und Jodlbauer (1904) und Metzner (1924) das analog gebaute Na-Salz des Fluoreszeins weitaus am unwirksamsten. Starke photodynamische Schädigungen sind sonach an höheren Pflanzenzellen praktisch kaum zu erwarten. Schumacher (1933, 1936) und Döring (1935) geben übereinstimmend an, daß das Kaliumfluoreszein für den lebenden Protoplasten absolut unschädlich sei. Ich habe diese Befunde nochmals nachgeprüft. *Allium*-Epidermen, deren Protoplasten in saurer Lösung stark gefärbt waren, wurden auf Leitungswasser übertragen und durch mehrere Tage hindurch beobachtet. Die Plasmafärbung verschwand allmählich, wobei der Farbstoff in zunehmendem Maße von den Vakuolen gespeichert wird (vgl. Döring 1935). Die Plasmaströmung und Konfiguration blieben vollkommen normal, so daß wir mit vollem Recht diese reversible Plasmafärbung als inturbant bezeichnen können. Außerdem habe ich junge Topfpflanzen der Tomate durch eine ganze Vegetationsperiode hindurch mit einer Lösung des Farbstoffes in Leitungswasser (1 : 10000) dauernd begossen. Die Wurzeln haben in allen Zellen den Farbstoff stark ge-

speichert. Trotzdem entwickelten sich die Pflanzen normal weiter und ergaben eine recht gute Ernte. Auch dieser Versuch beweist uns die Inturbanz der Fluoreszeinfärbung.

2. Die Farbstoffaufnahme und -speicherung.

a) Die Bedeutung der Permeabilität.

Für die Farbstoffaufnahme in die Zellwand spielt das Permeationsvermögen des Farbstoffes durch die Membran nur insofern eine Rolle, als die Porengröße der Zellwand für eine Farbstoffeinlagerung hinreichend sein muß. Impermeabel für den Farbstoff sind nur stark kutinisierte Zellwände, wie die äußeren Wände der Zwiebelepidermis. Die nichtkutinisierten oder nur sehr schwach kutinisierten Zellwände der *Helodea*-Zellen sind dagegen für das Fluoreszeinkalium glatt permeabel.

Damit aber überhaupt eine Färbung des Zellinhaltes zustande kommen kann, ist im Falle einer reinen Plasmafärbung das Vermögen zu intrameieren oder im Falle einer Vakuolenfärbung das Permeationsvermögen eine unbedingte Voraussetzung. Daß das Fluoreszeinkalium sowohl leicht intrameiert als auch permeiert, ist durch die Versuche hinlänglich bewiesen worden. Würde aber nur das Intrameiervermögen allein für das Zustandekommen einer Plasmafärbung verantwortlich sein, so könnte diese im Falle einer bloßen Durchtränkungsfärbung nur bis zur Erreichung des Konzentrationsgleichgewichtes vorschreiten. Dies ist aber nicht der Fall. Stellt man im sauren Bereich mit sehr stark verdünnten Farblösungen Vitalfärbungsversuche an, so kann man sich leicht davon überzeugen, daß das Fluoreszeinkalium entgegen dem Konzentrationsgefälle im Protoplasma mit großer Geschwindigkeit angereichert wird. Die Permeabilität ist sonach für das Gelingen der Vitalfärbung nur eine notwendige Voraussetzung. Der Farbstoff wird vom Protoplasten mit großer Geschwindigkeit bei geeigneter C_H des Außenmediums gespeichert.

b) Die Natur der Farbstoffspeicherung im Protoplasten.

Die Natur dieser Speicherung läßt sich für das Fluoreszeinkalium klar ermitteln. Eine chemische Bindung liegt nicht vor, denn es ist unwahrscheinlich, daß eine solche C_H abhängig wäre. Auch die Reversibilität beweist uns, daß der Farbstoff nur locker vom Protoplasten gebunden wird. Eine Speicherung auf Grund der Lipoidlöslichkeit, wie ich sie (1937b) für das Rhodamin B sicherstellen konnte, fällt wegen der absoluten Ölunlöslichkeit des Farbstoffes weg. Da die Speicherung eindeutig von der C_H abhängig ist, müssen wir eine elektroadsorptive Bindung des

Farbstoffes an positiv geladenen Oberflächen des Plasmas annehmen. Dies wird durch das sichergestellte Tatsachenmaterial zur Gewißheit. Im Sinne der Betheschen Reaktionstheorie wird der saure Farbstoff im sauren Milieu von der Zelle gespeichert. Bis zum Erreichen des IEP der maßgeblichen Eiweißphase (um pH 5) ist die Elektropositivität der speichernden Oberflächen hinreichend, um den Farbstoff zu adsorbieren. Nach Überschreitung des IEP kann man keine Farbstoffspeicherung mehr beobachten. Daß aber die Protoplasten noch immer für den Farbstoff permeabel sind, beweisen uns Versuche mit hochkonzentrierten Farblösungen im neutralen und schwach alkalischen Bereich bei *Allium* (Durchtränkung).

Über die Natur der C_H-Abhängigkeit der Vitalfärbung sind in letzter Zeit im Zusammenhange mit der Ca- und Al-Wirkung Zweifel darüber aufgetaucht, ob es sich dabei primär um eine Regulation der Permeabilität oder um eine Veränderung des Speicherungsvermögens handelt (Kersting, 1937). Schon Bünning (1936) und in neuerer Zeit Drawert (1937) betonten aber, daß die C_H-Regulation auf einer Veränderung des Speicherungsvermögens beruht. Als ich 1935 die C_H-Abhängigkeit der Neutralrotaufnahme bei Wurzelhaaren studierte, habe ich niemals an eine Regulation der Permeabilität gedacht, sondern selbstverständlich die beobachteten Erscheinungen nur auf eine Änderung der elektrostatischen Speicherung des Farbstoffes zurückführen können. Wie könnte sonst der Farbstoff aus der Vakuole in die Membran durch den Plasmaschlauch bei Azidifizierung auswandern. Auch für die vorliegenden Tatsachen läßt sich eine klare Entscheidung treffen. Ich brauche nur auf die vollständig übereinstimmenden Speicherungsbefunde in Abhängigkeit von der C_H an lebenden und fixierten *Helodea*-Blättern hinzuweisen. Jeder Fachmann wird mir zustimmen, daß in meinen Experimenten die Plasmafärbung nicht durch eine etwaige C_H-Regulation der Permeabilität, sondern durch eine C_H-Regulation des Speicherungsvermögens des Protoplasmas zustande kommt. Ich muß der Meinung Collanders (1937 a, b) völlig zustimmen, daß die Rolle der Permeabilität bei Vitalfärbungsversuchen nicht überschätzt werden darf. Für das Zustandekommen einer Färbung ist vielmehr das Speicherungsvermögen maßgebend, worauf übrigens schon Gicklhorn (1931) klar hingewiesen hat. Der von Collander (1937) aus den Schriften Overtons entnommene Terminus „adenoide Tätigkeit" ist wohl brauchbar, solange wir über die Mechanik der Farbstoffspeicherung im unklaren sind. Erstrebenswert ist aber die Ausarbeitung von Methoden, die uns einen Einblick in die Mechanik dieser Vorgänge gewähren können.

Durch die vorliegende Arbeit hoffe ich einen Schritt in dieser Richtung getan zu haben.

Die Farbstoffspeicherung des Fluoreszeinkaliums im Protoplasma ist also rein elektroadsorptiver Natur. Junge und alte Plasmen unterscheiden sich je nach der Lage ihres IEP in charakteristischer Weise.

c) Die Färbung der Zellwand.

Für unsere Betrachtungen ist aber die Färbung der Zellwand von besonderer Wichtigkeit.

Der IEP der Zellmembranen des oberseitigen Blattparenchyms von *Helodea* liegt nach den Angaben von Drawert (1937e) bei pH 2,70. Unterhalb dieser C_H ist die Zellmembran positiv umgeladen. Oberhalb ihres IEP dagegen besitzt sie die von Czaja (1935, 1937) festgestellte negative Ladung. Für unseren sauren Farbstoff kommt demnach eine elektroadsorptive Speicherung des Farbstoffes im Sinne der von Czaja (1937) klargelegten Auffassung (vgl. Drawert 1937c, d, e) nur unterhalb von pH 2,70 in Frage, denn nur bei positiver Ladung der Zellmembran ist eine Adsorption der Farbstoffanionen denkbar. In Übereinstimmung mit diesem Gedankengang ergaben auch die diesbezüglichen Experimente eine klare Membranfärbung am lebenden und alkoholfixierten Material unterhalb des IEP. Die alkoholfixierten Blätter zeigten oberhalb des IEP niemals eine Färbung der Parenchymzellmembranen der Oberseite. Die lebenden Blätter ergaben aber, besonders, wenn die Protoplasten oberhalb pH 5 den Farbstoff nicht mehr zu speichern vermögen, eine deutliche Membranfärbung. Diese Färbung oberhalb des IEP der Zellmembranen kann nicht elektroadsorptiver Natur sein. Dies beweist uns schon das Verhalten der alkoholfixierten Blätter, die sich ja nur nach der Verteilung der elektrischen Ladungen anfärben. Die negative Zellwand kann nicht Anionen adsorbieren. Diese an den Lebenszustand der Zellen geknüpfte Färbung müssen wir vielmehr als kapillare Imbibitionsfärbung ansehen. Die von Frey-Wyssling (1937) entdeckten submikroskopischen Kapillarensysteme werden bei lebendigen Zellen, bei denen der Zusammenhang zwischen Protoplast und Membran ungestört ist, mit dem Farbstoff imbibiert, wenn die Protoplasten den Farbstoff nicht zu speichern vermögen. Es muß wohl dabei der intramembranöse Plasmaanteil als oberflächenaktives Element beteiligt sein. Wir wollen die an lebenden Zellen oberhalb des IEP der Membranen auftretende Färbung als vitale Imbibitionsfärbung der Zellmembran bezeichnen. Sie hat aber mit der von

mir (1935) und Czaja (1937) beschriebenen elektrostatischen Anfärbung der Zellmembranen mit basischen Farbstoffen nur eine äußerliche Ähnlichkeit und kann damit nicht identisch sein.

3. Die Analyse der Wanderung des Fluoreszeins in der Zellmembran.

Daß der Farbstoff in den Zellmembranen wandert, konnte ich durch die vorliegenden Beobachtungen beweisen. Auch die Beziehungen zwischen Farbstoffspeicherung und Wanderung habe ich bereits bei der Beschreibung der Versuche hinlänglich geklärt. Hier müssen wir uns ein Bild vom Zustandekommen der Membranwanderung auf Grund des erarbeiteten Tatsachenmateriales entwerfen.

a) Die strukturellen Grundlagen.

Vor dem Erscheinen der grundlegenden Arbeit von Frey-Wyssling (1937) wäre es schwierig gewesen, sich eine genauere Vorstellung

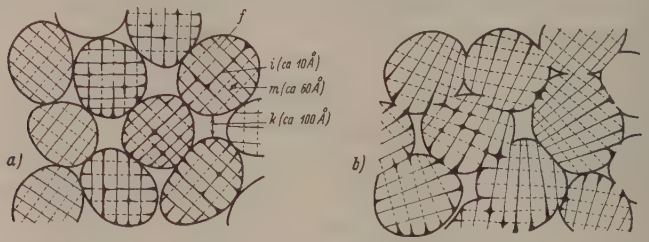


Fig. 4. Schematischer Querschnitt durch den submikroskopischen Faserbau. f = submikroskopische Mikrofibrillen durch intermicellare Räume zerklüftet. m = schematischer Umriß der ungestörten Gitterbereiche (Micelle) durch zwei Hauptrichtungen im Zellulosegitter ——— und ·····, auf eine Ebene projiziert. k = submikroskopische Kapillaren. a) Die Mikrofibrillen sind vollständig individualisiert. b) Der Gitteraufbau der Mikrofibrillen geht gleitend in denjenigen der Nachbarfibrillen über. (Aus Frey-Wyssling 1937).

von der Wegsamkeit der Membranen zu machen, wie sie für die beobachteten Wanderungsvorgänge notwendig ist (vgl. Frey-Wyssling 1936). Erst durch die röntgenometrische Vermessung von pflanzlichen Zellwänden, in deren intermicellare Bereiche Goldteilchen dichroitisch eingelagert waren, konnte Frey brauchbare Unterlagen liefern. In seiner schönen Arbeit führte er den Nachweis, daß außer den intermicellaren Räumen von der Größenordnung 10 Å, die in den Mikrofibrillen liegen, noch submikroskopische zusammenhängende Kapillarensysteme zwischen den Mikrofibrillen vorhanden sein müssen, die einen Durchmesser von 100 Å besitzen. In Fig. 4 ist das von Frey dargestellte Schema des Membranbaues im Querschnittsbild wiedergegeben. Dieses submikro-

skopische Kapillarensystem ist parallel zur optischen Achse angeordnet und zeichnet sich durch seine Leitfähigkeit besonders aus. Der Durchmesser dieser Kapillaren reicht zum Transport von Farbstoffen und anderen organischen Stoffen, wie Glukose, vollkommen aus. Nach Frey sollen Membraninkrusten wie Lignin und Kutinsubstanzen in diese Kapillaren eingelagert sein, so daß das Fehlen der Leitfähigkeit bei kutinisierten Zellwänden einfach durch die Verstopfung dieser Kapillaren zu erklären ist. Auch auf die Beziehungen zwischen Protoplast und Membran weist Frey ausdrücklich hin. Das intramembranöse Protoplasma soll nach seinen Angaben in diesen Raumsystemen anwesend sein.

Die strukturelle Grundlage für die Möglichkeit einer Farbstoffwanderung in der Membran ist sonach in den submikroskopischen Kapillarensystemen gegeben.

b) Diffusion oder passive Mitnahme durch einen vorhandenen Lösungsstrom?

Theoretisch können wir uns drei Möglichkeiten für den beobachteten Wanderungsvorgang in den submikroskopischen Kapillaren vorstellen.

1. Die Farbstoffmoleküle wandern aktiv durch Diffusion.

2. Es findet eine elektrophoretische Wanderung der Farbstoffteilchen statt.

3. Der Farbstoff wird in einen bereits vorhandenen Lösungsstrom eingeschaltet (Konvektion) und wandert passiv. Er würde dann nur ein Indikator für den Lösungsstrom in den submikroskopischen Kapillaren sein.

Zwischen diesen drei Möglichkeiten haben wir auf Grund der vorliegenden Tatsachen die Entscheidung zu treffen.

ad 1. Die Einwanderung des Farbstoffes aus der aufgelegten Gelatine in die submikroskopischen Kapillarräume der Zellmembranen erfolgt zunächst sicher auf dem Wege der Diffusion. Die Entscheidung, ob der Farbstoff in den Membranen auch durch reine Diffusion weiterwandert, läßt sich zunächst am besten auf Grund der beobachteten Geschwindigkeiten diskutieren. Meine Geschwindigkeitsmessungen ergaben äußerst differente Werte, so daß ich zunächst auf die Wiedergabe ausführlicher Protokolle verzichten mußte. Die Streuung ist so groß, daß gültige Mittelwerte kaum gegeben werden können. Doch steht es fest, daß in jüngeren Blättern die Geschwindigkeit der Farbstoffwanderung in den Membranen der Mittelrippe konstant so groß ist, daß eine Messung mit dem Mikroskop kaum mehr durchführbar war. Diese immer wieder beobachtbaren Geschwindigkeiten betrugen im Durchschnitt 1,5 mm pro Sekunde. Durch einen einfachen Diffusionsvorgang können wir eine

derartige Wanderungsgeschwindigkeit nicht erklären. Deshalb nimmt Schumacher (1937), der in den Siebröhren ähnliche Geschwindigkeiten feststellen konnte, im Zusammenhange mit Gedankengängen von A. Meyer (1926) an, daß es sich dabei um eine „Aktivierte Diffusion" handeln könnte. Mangham (1917) und van den Honert (1932) diskutieren dasselbe Problem und glauben, daß in monomolekularen Schichten eine ungemein rasche Ausbreitung von Molekülen möglich wäre. Die Molekularbewegung würde dann nicht in ihrer Intensität zunehmen, wie es Mason, Maskell und Phillis (1928, 1936) annehmen, was übrigens nach thermodynamischen Erwägungen unwahrscheinlich ist, sondern die Molekularbewegung würde dann zweidimensional vor sich gehen. Diese besonders von van den Honert vertretene Auffassung könnte bei unseren Phänomenen eine Rolle spielen. Ob solche Erscheinungen beteiligt sind, kann ich aber aus den bislang erarbeiteten Tatsachen noch nicht klar ersehen.

ad 2. Man könnte an einen elektrophoretischen Transport, hervorgerufen durch vitale Potentialdifferenzen, denken. Dieser Transport müßte aber je nach der Ladung der wandernden Teilchen gerichtet erfolgen. Ich habe daher mit dem elektropositiven Farbstoff Berberinsulfat, welcher im Modellversuch zur Kathode wandert, am *Helodea*-Blatt Wanderungsversuche durchgeführt, die in gleicher Weise verliefen, wie beim Fluoreszein. Eine Elektrophorese ist demnach als Ursache der Farbstoffwanderung nicht in Betracht zu ziehen.

ad. 3. Wenn die beiden ersten Möglichkeiten unwahrscheinlich sind, so bleibt nur noch die Möglichkeit einer passiven Wanderung in Lösung zu prüfen. Die Voraussetzung für eine solche Konvektionstheorie wäre die Existenz eines Lösungsstromes in den submikroskopischen Kapillarensystemen der Zellwände. Der Farbstoff würde dann nur als Indikator durch die Gelatineauflage in diesen Lösungsstrom eingeschaltet sein.

Zunächst müssen wir uns über die möglichen Ursachen solcher kapillarer Ströme auseinandersetzen.

Bei Landpflanzen würden die Verhältnisse klar liegen. Hier würde ein solcher Strom durch die Transpiration aufrechterhalten sein. Bei unserem Versuchsmaterial ist aber zunächst die Existenz solcher Ströme nicht einzusehen. Wenn man aber in Betracht zieht, daß durch die Präparation ein Wasserverlust des Gewebes zweifellos erzielt wird, und daß das Paraffinöl, in welches die Blätter eingelegt werden, nach den Angaben von Yamaha (1937) dem Gewebe nicht unbeträchtliche Wassermengen entzieht (es soll nach den Angaben dieses Autors sogar

zur Deformation und Plasmolyse der Zellen in Paraffinöl kommen), so ist es verständlich, daß Wasser der aufgelegten Gelatine entzogen wird, so daß von der Gelatine ausgehend nach allen Seiten eine solche Lösungsströmung in den submikroskopischen Kapillarensystemen der Zellwände eintreten könnte.

Die Möglichkeit der Entstehung solcher Strömungen ist jedenfalls gegeben. Zur weiteren Entscheidung dieser Frage habe ich noch neue Experimente durchgeführt, deren Ergebnisse an dieser Stelle vorläufig mitgeteilt werden sollen.

Würde die oben besprochene Auffassung zutreffen, so müßte durch einen einseitigen Wasserentzug und eine gleichzeitige Wasserzufuhr von der entgegengesetzten Seite aus ein Lösungsstrom in den submikroskopischen Kapillaren entstehen, der durch die Einschaltung des Fluoreszeins nachweisbar sein müßte.

Um dies zu erreichen, habe ich folgende Versuchsanordnung gewählt.

Ältere *Helodea*-Blätter wurden zwischen Filterpapier getrocknet. Auf dem Mittelteil des Blattes wurde ein Farbstoffgelatineplättchen aufgelegt. Dann wurde ein Deckglas so aufgelegt, daß nur die Gelatine und die unmittelbare Umgebung derselben zugedeckt war. Seitlich habe ich dann sorgfältig Paraffinöl zugesetzt, so daß nur das Gelatineplättchen mit der mittleren Blattpartie unter Paraffinöl stand. Die Blattbasis und Blattspitze ragten frei aus dem Präparat heraus. Die Blattbasis wurde mit einem Tropfen Wasser versehen, die Blattspitze dagegen wurde als transpirierende Oberfläche frei gelassen. Auch umgekehrt wurde dieser Versuch durchgeführt. Wenn die obige Überlegung zutrifft, so müßte sich durch eine solche Versuchsanordnung ein künstlicher Transpirationsstrom im Blatt erzeugen lassen, dessen Richtung willkürlich bestimmt werden kann.

Ich habe diese Methode an alten Blättern mit gutem Erfolg angewendet, muß aber betonen, daß bei einzelnen Pflanzen jede Wirkung ausblieb. Eine Erklärung für die Ausfälle vermag ich vorläufig noch nicht zu geben, weitere Experimente müssen den Sachverhalt erst klären. Die vielen positiv verlaufenden Versuche waren aber so aufschlußreich, daß ich darüber schon in dieser Arbeit kurz berichten möchte.

1. Das Mittelrippenphänomen trat immer zuerst im Sinne des vermuteten Wasserstromes auf. Im Gegensatz zu Kontrollen, konnte also ein basal gerichteter Farbstoffstrom zuerst erzielt werden.

2. Im oberseitigen Blattparenchym waren bei den vielen positiv verlaufenen Versuchen völlig neue Erscheinungen zu beobachten. In den Längsmembranen einzelner Zellenzüge traten rasche Farbstoff-

wanderungen im Sinne der vermuteten Richtung auf, die innerhalb der ersten Minuten nach Ansetzen des Versuches entstanden und mit großer Geschwindigkeit sich entwickelten. Der Farbstoff schießt förmlich in einzelnen oder auch zuweilen in vielen Zellwandlängsreihen zur Stelle des Wasserentzuges hoch. Erst etwas später tritt auch eine Färbung der angrenzenden Quermembranen ein. In Taf. II, Fig. 10 und 11 sind diese neu auftretenden Farbstoffwanderungen photographisch wiedergegeben.

3. Wohl infolge des allzu starken Austrocknens des Blattes traten bei einigen Versuchen schon vor der Wasserzufuhr (die ja im Laufe der Präparation erst nach der Gelatineauflage erfolgt) solche rasche Parenchymwanderungen des Farbstoffes nach der später mit Wasser versehenen Seite hin auf. Wird aber diese Seite mit Wasser versorgt und die entgegengesetzte Seite transpirieren gelassen, so tritt das beabsichtigte Gefälle auf und die der Wasserquelle zugewandten gefärbten Längsmembranreihen beginnen sich langsam wieder zu entfärben. Dieser Vorgang nimmt seinen Anfang an der von der Gelatine entferntesten Stelle und schreitet bis zur Gelatine vor. Unterdessen entwickelten sich im Sinne des zu erwartenden Wasserstromes gefärbte Zellmembranreihen zur transpirierenden Stelle hin.

4. Auch mit Plasmolysepasten habe ich solche Versuche an geeigneten Pflanzen mit Erfolg durchführen können.

Diese Ergebnisse bestärken sehr die Auffassung von einer passiven Einwanderung des Fluoreszeins in die submikroskopischen Kapillarensysteme der Zellmembranen. Wenn bei der weiteren Bearbeitung dieser Fragen nicht entscheidende Argumente gegen diese Auffassung auftreten, so will ich mich zu dieser Theorie bekennen.

c) Die Neuformulierung der Imbibitionstheorie von Sachs (1865).

Diese Feststellungen führen zu einer Wiederbelebung des alten Gedankens von Sachs, der in den pflanzlichen Zellwänden eine Strömung des Imbibitionswassers vermutet hat. In seiner „Experimentalphysiologie“ formulierte er folgende Theorie der Wasserbewegung innerhalb des Pflanzenkörpers.

Nach einem schon von Meyen (1838) und Hofmeister (1858) vertretenen Gedanken soll das Wasser im Holzkörper, der nach der damaligen Meinung in den Gefäßlumina Luft enthält, durch kapillare Imbibition in den Zellmembranen der Gefäße und Gefäßzellen hochsteigen. Der Transpirationszug wird als treibende Kraft angesehen.

Von den Leitungsbahnen soll das Wasser bis zur Pflanzenoberfläche durch die Zellmembranen der parenchymatischen Gewebe geleitet werden. Er äußert sich in der 3. Auflage seines Lehrbuches folgendermaßen: „Es drängt sich schon hier die Frage auf, ob diese Wasserbewegung innerhalb des saftigen Gewebes (Parenchym der Blätter) durch Endosmose von Zelle zu Zelle vermittelt wird, oder ob nicht etwa die Bewegung wenigstens vorzugsweise an und in den Zellwänden stattfindet, so daß diese zwischen den Holzbündeln und den Verdunstungsflächen die Strombahnen darstellen, wobei die Zellinhalte nur nebenbei in Mitleidenschaft gezogen würden."

Obzwar Wiesner (1875) für eine solche Auffassung eintrat, wurde diese Imbibitionstheorie völlig aufgegeben. Mit Recht ist sie für die Leitungsbahnen als unhaltbar erkannt worden. Doch konnten Buscalioni und Pollacci (1901) durch die Entdeckung der Antiklinentranspiration für die Parenchymzellen der Blätter eine Wasserbewegung in den Membranen recht wahrscheinlich machen. Diese Autoren äußern sich sogar so bestimmt, daß sie angeben, daß die Hypothese von Sachs durch ihre Beobachtungen für Parenchymzellen eine Bestätigung erfahren habe.

Rudolph (1925), Schüler E. Stahls, hat im Sinne dieser Beobachtungen weitere Tatsachen gesammelt, die bedeutungsvoll genug sind, um an dieser Stelle erwähnt zu werden.

Durch geeignete Färbeversuche konnte Rudolph die besondere Wegsamkeit der epidermalen Radialwände vieler Pflanzen experimentell beweisen, wodurch die von Buscalioni und Pollacci entdeckte Antiklinentranspiration verständlich wird. Sehr interessant sind seine Befunde über das Auspressen von Wasser aus den Radialwänden der Epidermen, welches bei *Begonia-* und *Tradescantia*-Blättern experimentell erreicht werden konnte. Die Epidermen waren mit feinem Nachtblaupulver bestreut. Oberhalb der Radialwände ging das Nachtblau nach dem Auspressen unter Druck in Lösung. Rudolph gelangt zum Schluß, daß sich der Transpirationsstrom im Sinne der Sachsschen Theorie in den Membranen bewegt. Im Zusammenhange mit der Membranschichtung der Antiklinen wäre das Phänomen der Antiklinentranspiration verständlich.

Auch bei der Bearbeitung des Endodermisproblems hat man Beobachtungen gesammelt, die im Zusammenhange mit der vorliegenden Analyse an Bedeutung gewinnen. So konnten Colin und Rufz de Lavison (1910) an eingetauchten Wurzeln feststellen, daß Salze von Fe, Ca, Hg sowie einige Farbstoffe wie Safranin, Eosin und Methylgrün

nicht vom Plasma aufgenommen werden, sondern in radialer Richtung durch die Zellmembranen bis zur Endodermis langsam vordringen können. Der Casparysche Streifen bildet aber eine unüberwindliche Schranke. Ziegenspeck (1921) konnte diese Angaben bestätigen. Später hat Hoßbach (1928) eine Farbstoffwanderung beobachtet und fand, daß in vielen Fällen die Endodermis überschritten werden kann. Mager (1933) stellte solche Versuche mit Erythrosin an und konnte dagegen die älteren Befunde bestätigen.

Durch die vorliegenden fluoreszenzoptischen Versuche ist der Beweis geliefert, daß die Zellmembranen durch bloße Imbibition den Farbstoff aufnehmen können und daß sie ungemein wegsam sind. Für die Wasser- und Stoffbewegung in Parenchymen ist es daher erwünscht, die Theorie von Sachs einer Neuformulierung zu unterziehen. Dabei muß auf Grund unserer heutigen Kenntnisse über die Wasserleitung im Holzkörper der Sachs'sche Gedankengang für diesen Vorgang abgelehnt werden.

Unter Imbibition verstehen wir die Durchtränkung des submikroskopischen Kapillarensystems der Zellwand. Sie muß wohl von der Quellung unterschieden werden, die ja nach Frey-Wyssling darin besteht, daß die intermicellaren Räume Wasser aufnehmen. Durch den Transpirationszug wird in den ungemein wegsamen submikroskopischen Kapillaren ein Lösungsstrom entstehen, der aus den Tracheiden immer wieder neu gespeist wird. Daß ein solcher Transpirationsstrom für die Wanderung von Stoffen von großer Bedeutung sein kann, liegt auf der Hand.

Durch eine solche Auffassung werden folgende bisher beobachtete Phänomene verständlich:

1. Die Antiklinentranspiration.
2. Die kutikuläre Exkretion (Arens, 1934).
3. Die beobachtete Farbstoffwanderung in den Membranen.
4. Der Transport von Stoffen (Salze, organische Stoffe), der unabhängig von der Permeabilität der Zellen mit großer Geschwindigkeit vor sich gehen kann. Die Beziehungen zwischen Zellinhalt und transportierter Substanz konnte ich in der vorliegenden Arbeit bereits experimentell einer Klärung näher bringen.
5. Man müßte versuchen auch die Frage des Wuchsstofftransportes unter diesen Gesichtspunkten zu prüfen.

Die kutikuläre Exkretion wäre durchaus verständlich, denn an den Orten der Transpiration müßten die vom intramembranösen Tran-

spirationsstrom mitgeführten Salze abgelagert werden. Die Rolle der Kutikula würde darin liegen, daß sie abdichtend wirkt. Frey-Wyssling (1937) betont, daß die Membraninkrusten in die submikroskopischen Kapillarräume eingelagert werden und diese dann verstopfen müssen. Aus dieser Erwägung heraus ist es auch verständlich, warum kutinisierte Membranen keine Farbstoffwanderung und Durchlässigkeit zeigen. So prüfte Dietrich (1929) die Leitfähigkeit der äußeren Membranen der unterseitigen Zwiebelschuppenepidermis. An einzelnen verletzten Stellen drang der Farbstoff durch die Kutikula wohl ein, aber er vermochte sich nicht deutlich in den kutinisierten Membranen auszubreiten. Er kommt auf Grund dieser Experimente zum Schluß, daß die Zellmembranen keinen günstigen und effektvollen Wanderweg für Farbstoffe darstellen können. Für seine Versuchsbedingungen hat Dietrich sicherlich recht, aber eine Verallgemeinerung ist nicht durchführbar. Der Satz gilt nur für kutinisierte Membranen.

Auch die Versuche Schumachers (1936) an den Haaren von *Cucurbita* und *Primula* müssen vom selben Gesichtspunkte aus beurteilt werden. Auch bei diesen Versuchsobjekten handelt es sich um Zellenzüge, deren Membranen fast vollständig inkrustiert sind. In diesen Versuchen konnten die Membranen gar nicht den Wanderweg vorstellen, da die submikroskopischen Kapillarensysteme verstopft sind. Die Protoplasten dieser Haarzellen müssen wohl für das Fluoreszein ungemein günstige Speicherungsverhältnisse haben, was aus der von Schumacher beschriebenen raschen Anfärbung hervorgeht. Dann muß der Farbstoff nach den Gesetzen der Diffusion im Protoplasten wandern. Auch bei seinen Untersuchungen über die Einwanderung des Fluoreszeins in die Parenchymzellen der Blattnerven von *Pelargonium* muß Schumacher die Phase der Membranwanderung entweder entgangen sein, weil er zu lange mit der Untersuchung gewartet hat, oder es ist durch die Wundverletzung eine Ansäuerung eingetreten, die zu einer raschen Plasmafärbung geführt hat (vgl. Döring 1935). Es wäre von größtem Interesse, die vorliegenden Befunde mit den Ergebnissen Schumachers an Siebröhren zu vergleichen. Doch sind die Versuchsobjekte so verschieden, daß vorläufig nur Vermutungen geäußert werden können.

Prinzipiell wäre es möglich, daß auch bei den Schumacherschen Versuchen das Fluoreszein primär in den Zellmembranen wandert. Die Geschwindigkeiten, die ich in Mittelrippen von *Helodea* feststellen konnte, stimmen mit den Befunden an Siebröhren überein. Die von Schumacher beobachtete Plasmafärbung kann erst durch eine nach-

trägliche Farbstoffadsorption aus den Membranen entstanden sein, was sicherlich erneut geprüft werden muß. Auch eine solche Auffassung ließe die Unabhängigkeit der Wanderung von Äskulin und Fluoreszein verständlich erscheinen (Schumacher 1937). Ob freilich der Massentransport der Assimilate gleich verläuft, wie der Farbstofftransport, muß bei der weiteren Analyse dieser hochdifferenzierten Organe erst gezeigt werden (vgl. Huber 1937).

Würde in den Siebröhren die Fluoreszeinwanderung in der gleichen Weise wie bei unseren Objekten erfolgen, so wäre es sehr unwahrscheinlich, daß damit der Assimilatstrom experimentell erfaßt wird. Die Frage ist sonach wichtig, und es ist zu wünschen, daß sie trotz aller technischen Schwierigkeiten bald in Angriff genommen wird.

Diese Ausführungen sollen keine Kritik der Schumacherschen Experimente bedeuten, sondern sollen auf Grund der vorliegenden Erfahrungen noch bestehende Möglichkeiten aufdecken.

Aus der Feststellung der großen Wegsamkeit der submikroskopischen Kapillarensysteme in den Zellmembranen ergeben sich aber auch für elektrophysiologische Versuche wichtige Konsequenzen.

Durch Osterhout (1912) wurde die Methode der elektrischen Leitfähigkeitsmessung an lebenden Geweben für die Erfassung der Permeabilität eingeführt. Ich glaube nicht, daß damit die Permeabilität der Protoplasten gemessen werden kann. Wenn wir uns die Membranen mit Elektrolytlösungen imbibiert vorstellen und dazu noch die ungemeine Wegsamkeit in Betracht ziehen, so muß durch solche Leitfähigkeitsmessungen in erster Linie die Leitfähigkeit der Imbibitionsflüssigkeit der Membranen erfaßt werden. Recht interessant sind in diesem Zusammenhange Beobachtungen, die Drawert (1937a) an vital gefärbten elektrisch durchströmten Zwiebelepidermen gewinnen konnte.

Er beobachtete im labilen C_H-Bereich die Anfärbung der Zellmembranen, hervorgerufen durch eine elektrische Reizung. „Lagen die Längswände parallel zur Stromrichtung, so färbten sich nach einem Induktionsschlag nicht die Längsmembranen, aber viele Quermembranen. War die Epidermis um 90^0 gedreht, so daß die Längswände senkrecht zur Stromrichtung orientiert waren, so nahmen nur diese den Farbstoff aus dem Zellsaft auf, jedoch nicht nach einem Induktionsschlag, sondern erst nach mehreren Schlägen und dann auch nur in geringerer Intensität". Aus dem Verhalten unplasmolysierter und plasmolysierter Zellen zieht Drawert den Schluß, „daß der elektrische Strom seinen Hauptweg durch die Zellulosemembranen nimmt".

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. An der oberseitigen Epidermis der Zwiebelschuppe von *Allium Cepa* und an jungen und alten Blättern von *Helodea densa* wurde die C_H-Abhängigkeit der Speicherung des Fluoreszeinkaliums im Fluoreszenzmikroskop eingehend geprüft. Der Farbstoff wird vom Protoplasma elektroadsorptiv gespeichert, wobei die Bethesche Regel, nach der ein saurer Farbstoff im sauren Milieu gespeichert wird, vollständig zutrifft. Nach dem Überschreiten des maßgeblichen IEP erfolgt im schwach sauren und alkalischen Bereich keine rasche Speicherung des Farbstoffes. Versuche an alkoholfixierten Blättern von *Helodea* ergaben für die Plasmafärbung das gleiche Resultat, wodurch die adsorptive Natur der Speicherung bestätigt wird. Die Zellmembranen speichern elektroadsorptiv den Farbstoff nur unterhalb ihres IEP, wo sie elektropositiv geladen sind. Die alkoholfixierten Blätter von *Helodea* ergeben oberhalb des IEP der Zellmembranen keine Membranfärbung mehr. Dagegen tritt bei lebenden Blättern eine nicht adsorptive, vitale Imbibitionsfärbung der Membranen auf, die dann zu beobachten ist, wenn die Protoplasten infolge ungünstiger C_H den Farbstoff nicht mehr rasch zu speichern vermögen. Alte und junge Blätter von *Helodea* zeichnen sich durch einen deutlichen Unterschied des Speicherungsvermögens der Protoplasten aus. Die jungen wachsenden Protoplasten speichern den Farbstoff bis in den schwach alkalischen Bereich hinein optimal, was bei ausgewachsenen Zellen nicht der Fall ist.

2. Durch Auflegen einer Fluoreszeingelatine auf unverletzte Gewebe (Zwiebelepidermen und *Helodea*-Blätter) habe ich unter Paraffinöl die Einwanderung des Fluoreszeins in das Gewebe studiert. In den Epidermen von *Allium* und in den oberseitigen Parenchymzellen alter *Helodea*-Blätter wandert der Farbstoff primär ausschließlich in den Membranen weiter. Erst sekundär erfolgt je nach der Geschwindigkeit der Farbstoffadsorption durch den Protoplasten eine Speicherung des Farbstoffes im Protoplasma, wobei sich dann die Membranen entfärben können. Die Zellen der Streckungszone der *Helodea*-Blätter zeichnen sich durch eine so schnelle Adsorption des Fluoreszeins durch die Protoplasten aus, daß es zu keiner sichtbaren Einwanderung durch die Membranen kommen kann. Der Farbstoff wandert sichtbar nur von Protoplast zu Protoplast. In der Mittelrippe des *Helodea*-Blattes findet eine ungemein rasche Farbstoffwanderung statt, die bei alten Blättern bevorzugt nach der Spitze zu verläuft. Bei jungen Blättern dagegen ist diese Polarität so ausgeprägt, daß bei mittlerer Gelatineauflage die rasche Einwanderung

des Fluoreszeins durch die Mittelrippe nur nach der Blattspitze zu, niemals aber basalwärts erfolgt. Die Farbstoffeinwanderung durch die Mittelrippe geht im Gegensatz zur Wanderung im Parenchym ungemein rasch vor sich (1,5 mm in der Sekunde). Sie erfolgt ausschließlich durch die Zellmembranen eines oberseitig gelegenen subepidermalen schmalen Zellenzuges. Von dieser primären Wanderbahn aus wird allmählich das Membransystem der benachbarten Zellen stark angefärbt, und der Farbstoff wandert auch in die Membranen des Blattfeldparenchyms ein, so daß nach längerer Zeit das ganze Blatt gleichmäßig durchfärbt erscheint.

3. Werden alte *Helodea*-Blätter künstlich durch kurzes Baden in sauren Puffergemischen intravital azidifiziert, so wird jede Membranwanderung gehemmt, da nunmehr die Protoplasten den Farbstoff optimal zu speichern vermögen. Die Wanderung ist dann umgestimmt. Sie findet wie bei jungen Blättern im Plasma statt. Diese Umstimmung ist durch erneutes Verschieben der Aziditätslage nach dem Neutralpunkt hin intravital reversibel.

4. Plasmolyse und Narkose hemmen die Membranwanderung vollständig. Für diese Versuche habe ich ein Pastenplasmolyseverfahren ausgearbeitet, welches es gestattet, lokalisierte Stellen des Gewebes unter Paraffinöl zu plasmolysieren.

5. Tötung einzelner Bezirke und ganzer Blätter hemmt die Membranwanderung vollständig. Diese ist sonach ein typisch vitaler Vorgang.

6. Außer dem Fluoreszeinkalium habe ich noch mit einer Reihe anderer fluoreszierender Stoffe Wanderungsversuche durchgeführt, die in gleicher Weise verliefen. Äskulin, Berberinsulfat (kathodisch!) Primulin, Sulforhodamin B, Sulforhodamin G, ergaben schöne Bilder.

7. Die Wegsamkeit der Parenchymzellmembranen ist sonach sehr groß. Durch die Vermessung des submikroskopischen Kapillarensystems durch Frey-Wyssling (1937) sind auch die strukturellen Grundlagen für diese Wegsamkeit der Membranen gegeben.

8. Daß diese rasche Wanderung durch einen einfachen Diffusionsvorgang bewirkt wird, halte ich infolge der auftretenden Geschwindigkeiten für unwahrscheinlich. Ebenso konnte eine Elektrophorese durch geeignete Experimente als unmöglich erkannt werden. Es bleibt noch die Möglichkeit einer zweidimensionalen Molekularbewegung in monomolekularer Schicht zu prüfen. Die Rolle intramembranöser lipoidreicher Plasmafilme könnte damit in Zusammenhang gebracht werden. Gegen eine ausschließliche Beteiligung einer „aktivierten Diffusion“ sprechen

aber vorläufig mitgeteilte Ergebnisse, die für ein passives Mitreißen der Farbstoffteilchen durch einen Lösungsstrom im submikroskopischen Kapillarensystem der Zellwände experimentelle Hinweise lieferten. Unter Umständen sind beide Prinzipien bei diesen Vorgängen beteiligt.

9. Im Zusammenhange mit der Entdeckung der submikroskopischen Kapillarensysteme durch Frey-Wyssling und mit dem Nachweis ihrer ungemeinen vitalen Wegsamkeit wurde die Sachs'sche Imbibitionstheorie für die Wasser- und Stoffbewegung in Parenchymen neu formuliert.

10. Ein Vergleich mit den Siebröhrenversuchen Schumachers läßt sich infolge der Verschiedenheit der Objekte schwer durchführen. Es muß aber mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß auch in den Siebröhren das Fluoreszein primär in den Membranen wandert.

11. Infolge der großen Wegsamkeit der Membranen muß auch die Methode der Leitfähigkeitsmessung zur Erfassung der Permeabilität einer Kritik unterzogen werden. Bei solchen Messungen wird man aller Voraussicht nach in erster Linie die Leitfähigkeit der mit Elektrolytlösungen imbibierten Zellmembranen erfassen.

Literaturverzeichnis.

Arens, K., Die kutikuläre Exkretion des Laubblattes. Jahrb. f. wiss. Bot. **80,** 248 (1934). — Bethe, A., Hofmeisters Beiträge **5,** 391 (1905). — Ders., Der Einfluß der H-Ionenkonzentration auf die Permeabilität toter Membranen, auf die Adsorption an Eiweißsolen und auf den Stoffaustausch der Zellen. Biochem. Zeitschr. **127,** 18 (1922). — Bünning, E., Über die Farbstoff- und Nitrataufnahme bei *Aspergillus niger*. Flora **131,** 87 (1936). — Buscalioni, L. e Pollacci, G., Ulteriori ricerche sull'applicazione delle pellicole di collodio allo studio di alcuni processi fisiologici delle piante ed in particular modo della transpirazione vegetale. Atti R. Istit. Bot. dell'università di Pavia, 2. ser. **7,** 44 (1901). — Collander, R., Einige neuere Ergebnisse und Probleme der botanischen Permeabilitätsforschung. Schriften der Phys.-ökonom. Ges. Königsberg (Pr.) **69,** 251 (1937a). — Ders. und Holström, A., Die Aufnahme von Sulfosäurefarbstoffen seitens pflanzlicher Zellen — ein Beispiel der adenoiden Tätigkeit der Protoplasten. Acta Soc. pro Fauna et Flora Fennica **60,** 129 (1937b). — Colin, H. et S. d. Rufz de Lavison, Du mode de pénétration de quelques sels dans la plante vivante. Rev. gén. d. Bot., No. **258** (1910). — Ders., Absorption comparée des sels de Ba, Sr et de Ca par la plante vivante. Rev. gén. d. Bot. No. **261,** 337 (1910). — Czaja, A. Th., Der Membran- oder Poreneffekt des Absorptionsgewebes und seine physiologische Bedeutung. Planta **24,** 527 (1935). — Ders., Untersuchungen über den Membraneffekt des Absorptionsgewebes und über die Farbstoffaufnahme in die lebende Zelle. Planta **26,** 90 (1937). — Dietrich, Fr., Beobachtungen über Stoffwanderung in lebenden Zellen. Protoplasma **8,** 161 (1929). — Diehl, J. M., Einige Beobachtungen über die Aufnahme von Farbstoffen durch die Blätter von *Helodea densa* und *Helodea canadensis*. Rec. d. tr. Bot. néerl. **33,** 502 (1936). — Döring, H., Versuche über die Aufnahme fluoreszierender Stoffe in lebende Pflanzenzellen. Ber. d. D. Bot.

Ges. **53,** 415 (1935). — Drawert, H., Untersuchungen über den Erregungs- und Erholungsprozeß in pflanzlichen Geweben nach elektrischer und mechanischer Reizung. Planta **26,** 391 (1937a). — Ders., Untersuchungen über die pH-Abhängigkeit der Plastidenfärbung mit Säurefuchsin und Toluidinblau in fixierten pflanzlichen Zellen. Flora **131,** 341 (1937b). — Ders., Das Verhalten der einzelnen Zellbestandteile fixierter pflanzlicher Gewebe gegen saure und basische Farbstoffe bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration. Flora **132,** 91 (1937c). — Ders., Der Einfluß anorganischer Salze auf die Aufnahme und Abgabe von Farbstoffen durch die pflanzliche Zelle. Ber. d. D. Bot. Ges. **55,** 380 (1937d). — Ders., Protoplasmatische Anatomie des fixierten *Helodea*-Blattes. Protoplasma **29,** 206 (1937e). — Frey-Wyssling, A., Der Aufbau der pflanzlichen Zellwände. Protoplasma **25,** 261 (1936). — Ders., Röntgenometrische Vermessung der submikroskopischen Räume in Gerüstsubstanzen. Protoplasma **27,** 372 (1937). — Gicklhorn, J., Zur Diskussion einiger grundsätzlicher Fragen der Vitalfärbung. Membranfärbungen an lebenden und toten, tierischen oder pflanzlichen Zellen und Organen. Biol. Zentralbl. **51,** 469 (1931). — Haitinger, M., Die Grundlagen der Fluoreszenzmikroskopie II. Wirkung der Fluorochrome auf pflanzliche Zellen. B. B. C. Abt. A. **53,** 378 (1935). — Ders. und Linsbauer, L., Die Grundlagen der Fluoreszenzmikroskopie und ihre Anwendung in der Botanik. B. B. C. Abt. A. **50,** 432 (1933). — Dies., Die Grundlagen der Fluoreszenzmikroskopie III. Darstellung organisierter Zelleinschlüsse. B. B. C. Abt. A. **53,** 387 (1935). — Hofmeister, W., Über das Steigen des Saftes der Pflanzen. Flora **41,** 3 (1858). — van den Honert, T. H., On the mechanism of the transport of organic material in plants. Proc. Akad. Wetensch. Amsterdam **35,** 1104 (1932). — Hoßbach, O., Beiträge zur Frage nach der Durchlässigkeit der Endodermiszellen. Diss. Münster 1928. — Huber, Br., 100 Jahre Siebröhrenforschung. Protoplasma **29,** 132 (1937). — Kersting, F., Über Adsorption von Farbstoffen an Zellwänden und ihre Verdrängung durch anorganische Salze. Ber. d. D. Bot. Ges. **55,** 329 (1937). — Lilienstern, M., Altersunterschiede von Zellen einiger Wasserpflanzen in bezug auf ihr Reduktionsvermögen. Protoplasma **23,** 86 (1935). Mager, H., Die Endodermis als Grenze für Stoffwanderungen. Planta **19,** 534 (1933). — Mangham, S., On the mechanism of translocation in plant tissues. Ann. of Bot. **31,** 293 (1917). — Mason, T. G., Maskell, E. J., Studies on the transport of carbohydrates in the Cotton Plant. II. Ann. of Bot. **42,** 571 (1928). — Dies. and Phillis, E., Further studies on transport in the Cotton Plant. V. Oxygen supply and the activation of diffusion. Ann. of Bot. **50,** 455 (1936). — Meindl, T., Weitere Beiträge zur protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes. Protoplasma **21,** 362 (1934). — Metzner, P., Zur Kenntnis der photodynamischen Erscheinung. III. Über die Bindung der wirksamen Farbstoffe in der Zelle. Biochem. Zeitschrift **148,** 498 (1924). — Meyen, F. J. E., Physiologie II, Berlin 1838. — Meyer, A., Morphologische und physiologische Analyse der Zelle der Pflanzen und Tiere. II. Jena 1926. — Moder, A., Beiträge zur protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes. Protoplasma **16,** 1 (1932). — Naylor, E. E., The hydrogen-ion concentration and the staining of sections of plant tissue. Amer. Journ. of Bot. **13,** 265 (1926). — Pischinger, A., Die Lage des isoelektrischen Punktes histologischer Elemente als Ursache ihrer verschiedenen H-Ionenkonzentration. Arch. f. Zellf. u. mikr. Anat. **3,** 169 (1926). — Ders., Diffusibilität und Dispersität von Farbstoffen und ihre Beziehung zur Färbung bei verschiedenem pH. Arch. f. Zellf. u. mikr. Anat. **5,** 347 (1927). — Rhodes, A.,

The movement of fluoreszein in the plant. Proc. of the Leeds Phil. Soc. III/**6,** 389 (1937). — Rudolph, K., Epidermis und epidermale Transpiration. Bot. Arch. **9,** 49 (1925). — Ruhland, W., Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut. Jahrb. f. wiss. Bot. **46,** 1 (1908). — Ders., Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. Jahrb. f. wiss. Bot. **51,** 376 (1912). — Sachs, J., Handbuch der Experimental-Physiologie der Pflanzen. Leipzig 1865. — Ders., Lehrbuch der Botanik, 3. Aufl. Leipzig 1873. — Schumacher, W., Untersuchungen über die Wanderung des Fluoreszeins in den Siebröhren. Jahrb. f. wiss. Bot. **77,** 685 (1933). — Ders., Untersuchungen über die Wanderung des Fluoreszeins in den Haaren von *Cucurbita Pepo*. Jahrb. f. wiss. Bot. **82,** 507 (1936). — Ders., Weitere Untersuchungen über die Wanderung von Farbstoffen in den Siebröhren. Jahrb. f. wiss. Bot. **85,** 422 (1937). — Strugger, S., Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin (1935a). — Ders., Beiträge zur Gewebephysiologie der Wurzel. Zur Analyse und Methodik der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. Protoplasma **24,** 108 (1935b). — Ders., Beiträge zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. Protoplasma **26,** 56 (1936a). — Ders., Die Vitalfärbung der Chloroplasten mit Rhodaminen. Flora **131,** 113 (1936b). — Ders., Die Vitalfärbung als gewebsanalytische Untersuchungsmethode. Arch. f. exp. Zellf. **19,** 199 (1937a). — Ders., Die Vitalfärbung des Plasmas mit Rhodamin B und 6G. Protoplasma (im Druck) (1937b). — Tappeiner, Fr. H. von und Jodlbauer, A., Über die Wirkung der photodynamischen (fluoreszierenden) Stoffe auf Protozoen und Enzyme. Deutsch. Arch. f. klin. Med. **80** (1904). — Weber, Fr., Plasmolyseform und Ätherwirkung. Pflügers Arch. **208,** 705 (1924). — Ders., Protoplasmatische Pflanzenanatomie. Protoplasma **8,** 291 (1929). — Ders., Unterschiede in der Säureresistenz der *Helodea*-Blattzellen. Protoplasma **16,** 287 (1932). — Wiesner, J. von, Untersuchungen über die Bewegung des Imbibitionswassers im Holz und in den Membranen der Pflanzenzellen. Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss. Wien, math.-natw. Kl. (1875). — Yamaha, G., Zur Methodik und Theorie der Vitalfärbung pflanzlicher Protoplasten. Botanic. Mag. (Tokyo) **51,** 533 (1937). — Ziegenspeck, H., Über die Rolle des Casparyschen Streifens der Endodermis und analoge Bildungen. Ber. d. D. Bot. Ges. **39,** 302 (1921).

Nachtrag.

Both, P. M., Stoffwanderung in einfachen Systemen. Rec. d. trav. bot. néerl. **34,** 1 (1937). — Crafts, A. S., Movement of organic materials in plants. Plant Physiology **6,** 1 (1931). — Ders., Phloem anatomy, exudation, and transport of organic nutrients in cucurbits. Plant Physiology **7** (1932).

Crafts vertritt für die Siebröhren den Standpunkt, daß der Stofftransport (untersucht mit Orange G) in den Membranen vor sich gehen soll. Im Hinblick auf die mitgeteilten Versuche gewinnen die Angaben von Crafts an Interesse.

Both untersucht ebenfalls die Fluoreszeinwanderung in Blättern. Er bestätigt die von Schumacher gefundene Wanderung des Farbstoffes im Phloëm und findet eine bemerkenswerte Abhängigkeit von der Luftfeuchtigkeit und damit von der transpirierenden Tätigkeit des Pflanzenorganes.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1. Die Einwanderung des Kaliumfluoreszeins in die oberseitige Epidermis von *Allium Cepa* unter Paraffinöl. Erstes Stadium innerhalb der ersten 10 Minuten. Rechts in der unteren Ecke ist ein Teil des Farbstoffgelatinerandes zu erkennen. Man sieht deutlich das Konzentrationsgefälle.

Fig. 2. Zweites Stadium der Kaliumfluoreszeineinwanderung in die oberseitige Epidermis von *Allium Cepa*. Das Plasma hat den durch die Membran eingewanderten Farbstoff gespeichert. Die Membranen erscheinen ungefärbt.

Fig. 3. Die vitale Imbibitionsfärbung der Zellwände des oberseitigen Parenchyms des Blattes von *Helodea densa* in einer Kaliumfluoreszeinlösung (pH 7,6). Das Plasma alter Parenchymzellen vermag in dieser CH den Farbstoff nicht zu speichern.

Fig. 4. Die vitale Plasmafärbung des oberseitigen Parenchyms eines alten Blattes im sauren Puffer (pH 3,30). Die Membranen sind völlig ungefärbt.

Fig. 5. Das in sauerer Lösung gefärbte Parenchym eines alten Blattes wurde 5 Minuten lang an der kreisförmigen dunklen Stelle mit dem langwelligen Ultraviolett bestrahlt. Die Zellen sind geschädigt und verlieren ihre Plasmafluoreszenz. Zur Aufnahme wurde das Präparat etwas verschoben, damit die Kontrastwirkung zwischen bestrahlter und unbestrahlter Stelle zur Geltung kommt.

Fig. 6. Dasselbe bei stärkerer Vergrößerung aufgenommen. Die vollständige Fluoreszenzlöschung nach Schädigung ist deutlich zu erkennen.

Tafel II.

Fig. 1. Die Einwanderung des Kaliumfluoreszeins in das oberseitige Parenchym alter Blätter. Basal die Gelatineauflage sichtbar. Der Farbstoff wandert ausschließlich durch die Membranen in das Gewebe ein.

Fig. 2. Dasselbe Bild.

Fig. 3. Die Einwanderung des Fluoreszeinkaliums in die oberseitigen Parenchymzellen der Streckungszone eines jungen Blattes. Es findet infolge der raschen Farbstoffadsorption durch das Plasma junger Zellen keine Membranwanderung statt. Die Membranen erscheinen ungefärbt, und der Farbstoff wandert lediglich im Protoplasma.

Fig. 4. Beginn des Mittelrippenphänomens (3 Minuten nach Auflage der Gelatine).

Fig. 5. Der Farbstoff wandert mit großer Geschwindigkeit nach der Blattspitze zu in der Mittelrippe weiter. Hinter der Wanderfront breitet sich der Farbstoff aus dem zentralen subepidermalen Zellenzug in die benachbarten Membranen aus.

Fig. 6. Teilansicht der elektiven Farbstoffwanderung im zentralen subepidermalen Zellenzug der Mittelrippe. Die Ausbreitung in die Membranen der benachbarten Zellen beginnt erst.

Fig. 7. Dasselbe wie in Fig. 6, aber bei stärkerer Vergrößerung. Der subepidermale schmale Zellenzug bildet die primäre Wanderbahn in seinen Membranen. Die sekundäre Auswanderung des Farbstoffes in die Membranen der epidermalen Zellenzüge der Mittelrippe ist in ihren Anfängen zu beobachten.

Fig. 8. Dasselbe, aber 10 Minuten später. Die sekundäre Ausbreitung ist weit vorgeschritten.

Fig. 9. Die in Fig. 8 abgebildete sekundäre Farbstoffausbreitung tritt knapp unterhalb der Spitze ins Blattfeld auffallend rasch auf.

Fig. 10. Durch einen künstlichen Transpirationsstrom hervorgerufene rasche Fluoreszeinwanderung in den Längsmembranen einzelner Parenchymzellenzüge.

Fig. 11. Dasselbe wie in Fig. 10. Die sekundäre Ausbreitung in die Quermembranen ist deutlich zu erkennen.

Sämtliche Aufnahmen sind mit panchromatischen Platten von Perutz „Peromnia“ hergestellt. Sperrfilter: Euphos-Deckglas und GG 11 (Schott). Belichtungszeiten $^3/_4-1^1/_2$ Minuten.

Kamera: Leitz-Macca-Aufsatzkamera $4^1/_2 \times 6$.

Optik: Fluoreszenzoptik nach Zeiss mit Ultraviolettfilter (Schott). Bogenlampe 10 Amp. Schwache Vergrößerungen: Objektiv 8×, stärkere Vergrößerungen: Objektiv C 20×. Okular 12×.

Eine physiologische Studie an *Ceterach officinarum* Willd.

Von **Ernst Rouschal.**

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Der Farn *Ceterach officinarum* ist vor allem im Mittelmeergebiete heimisch. Er vermag die langen sommerlichen Dürreperioden, wie sie für dieses Gebiet charakteristisch sind (vgl. z. B. Hann 1897), ohne Schaden für seine vegetativen Organe zu ertragen. In Engler-Prantl (I, 4, S. 244) und Hegi (I, S. 26) wird er als xerophil bezeichnet. Und dies mit Recht; denn, wie schon Borzi (1888) schreibt, und wovon man sich selbst überzeugen kann, kommt *Ceterach* „fast ausschließlich in Felsritzen und auf altem Gemäuer in trockener sonniger Lage vor". Dabei verfügt *Ceterach* keineswegs über tiefgehende Wurzeln, mit denen er etwa aus feuchteren Bodenschichten den Bedarf des Transpirationswassers decken könnte. Auch fehlen ihm besondere Einrichtungen, die für ausgiebigen Transpirationsschutz sorgten. Die Wasserabgabe der Blätter ist verhältnismäßig groß, wenn wir sie mit der typischer Wassersparer vergleichen. Messungen derselben am Standorte zeigten dies. Ich führe zwei Tagesgänge als Beispiel an (Tab. 1, Tab. 2).

Tabelle 1.

Zeit	Evaporation in ccm/dm² h.[1])	Transpiration in % des Trockengewichtes/h.	Transpiration in % des Wassergehaltes/h.	Wasserdefizit der Blätter
6,02h (S_4)	0,0143	3,97	2,02	3,53
8,15h (S_4)	2,07	1,97	—	—
9,09h „	2,82	148,1	69,00	6,4
11,24h „	3,40	147,00	66,00	24,6
13,18h „	3,71	114,00	62,3	—
15,29h „	1,45	60,00	22,6	11,47
17,17h (S_3)	1,80	37,00	17,62	11,55
19,07h (S_4)	0,686	34,2	21,95	6,17

Die erste Tabelle gibt die Transpirationswerte wieder, wie sie sich im August in der istrianischen Macchie, wenige Tage nach einem

1) Ermittelt mit Picheevaporimeter, grüne Filterscheiben, 3 cm Durchmesser und auf dm² umgerechnet.

heftigen Gewitterregen, fanden. Die Blätter des Farnes waren frisch und voll turgeszent.

Wir ersehen aus der Tabelle, daß die Transpiration stark aufgesättigter Wedel, in % des Trockengewichtes ausgedrückt, in der Sonne im Maximum auf 148,1% pro Stunde ansteigt. In Prozenten des Frischwassergehaltes ergeben sich rund halb so hohe Werte.

Tabelle 2 enthält die Daten, die nach zweiwöchiger Trockenheit am 20. August für stark ausgetrocknete Wedel derselben Pflanze gewonnen wurden.

Tabelle 2.

Zeit	Evaporation in ccm/dm² h.	Transpiration in % des Trockengewichtes/h.	Transpiration in % des Frischwassergehaltes/h.	Wasserdefizit der Blätter
8,42h (S_4)	1,23	1,97	15,08	98 (?)
10,36h „	3,98	3,27	17,10	88,1
12,30h „	4,00	12,78	77,5	93,2
14,40h „	3,39	11,58	120,00	—
16,41h „	3,73	6,20	61,00	94,5
18,33h	1,39	1,664	9,9	93,00

In dem Zustande der Trockenheit sind die Transpirationswerte — bezogen auf das Trockengewicht — freilich sehr klein. Es ist aber auch die Menge des vorhandenen Wassers in den Blättern nur rund $^1/_{10}$ des Quantums im feuchten Zustand. Beziehen wir auf den Wassergehalt, dann wachsen die prozentuellen Werte bis zu 120% an, erreichen also nahezu die doppelte Größe wie im turgeszenten Zustande der Blätter. Gerade dies besagt aber, daß keine besonderen Schutzvorrichtungen, die die Transpiration im geeigneten Augenblick entsprechend einschränken könnten, bei *Ceterach* vorhanden sind. Die scheinbare Herabsetzung der Transpiration bei Bezug auf das Trockengewicht ergibt sich einzig und allein durch die geringe noch vorhandene Wassermenge.

Verfügt nun eine Pflanze weder über ein tiefgehendes Wurzelsystem noch über hinreichenden Transpirationsschutz und lebt doch auf trockenstem Standort, so muß sie zu besonders hoher Austrocknung fähig sein. Schon die einfache Beobachtung am Standorte bestätigt dies für *Ceterach*: bei guter Wasserführung des Bodens turgeszentstarre, ausgebreitete Wedel (Fig. 1), zur Trockenzeit sind diese zusammengerollt und kaum einem lebenden Organe vergleichbar (Fig. 2). Neuerliche Wasserzufuhr läßt das Blattwerk wieder in seiner alten Frische aufleben. (Über die dabei auftretenden Rollungsmechanismen

vgl. Borzi 1888 und besonders Schmidt 1910, Zusammenfassung bei Guttenberg 1926).

Fig. 1. *Ceterach* im frischen Zustand.

Fig. 2. *Ceterach* trocken.

Schon Wittrock (1891), später Pessin (1924) und Iljin (1931) konnten zeigen, daß eine Anzahl von Farnen, wie *Polypodium vulgare*, *Asplenium trichomanes*, *A. ruta muraria*, *A. septentrionale*, ferner *Poly-*

podium polypodioides und *Notochlaena marantae* eine enorm hohe Austrocknungsfähigkeit besitzen. Sehr bekannt ist auch das Beispiel von *Selaginella lepidophylla.*

Wittrock trocknete *Polypodium vulgare* sogar über konzentrierter H_2SO_4 ohne Schädigung der vegetativen Organe des Farnes. Ebenso gelang dies Pessin bei *Polypodium polypodioides. Notochlaena marantae* verträgt nach Iljin zwar monatelange Lufttrockenheit, nicht dagegen vollständigen Wasserentzug mit konzentrierter H_2SO_4. Immerhin kommt diesem wie allen anderen genannten Farnen eine Austrocknungsfähigkeit zu, wie sie sonst z. B. Irmscher (1912), Rahm (1926) und Renner (1933) nur für Luftalgen, Pilze, Moose und *Hymenophyllaceen* schildern, während die vegetativen Organe der Blütenpflanzen meist bei viel geringerem Wasserverluste — im Maximum etwa 85% — abzusterben beginnen (G. Schröder 1886, Iljin 1927, 1930 — hier tabellarische Zusammenstellung bisheriger Befunde und einschlägige Literatur —, 1933; Vassiljiev 1931 [*Carex physodes!*], Oppenheimer 1932, Zeuch 1934, Chien Ren Chu 1936 u. a.).

Iljin verdanken wir die Anregung, nicht wie bisher die verschieden starke Austrocknungsfähigkeit schlechtweg als „spezifische Eigenschaft der Protoplaste" hinzunehmen, sondern nach dem eigentlichen Grund derselben zu fragen und zu forschen. Schon 1927 kommt er zu dem Schluß, daß der Wasserentzug an sich nicht zum Tode der Protoplasten führt; dessen Ursache sei vielmehr das Zerreißen des Protoplasmas infolge der großen Spannungen, die beim Austrocknen oder Aufsättigen in Erscheinung treten. Welch große Kräfte bei Zelldeformationen durch Kohäsionszug tatsächlich wirksam werden können, hat bekanntlich Renner (1915) an Zellen des *Farnannulus* gezeigt.

Verfügen nun Zellen über irgendwelche Einrichtungen, die derartige mechanische Störungen bei starker Wasseraufnahme oder -abgabe verhindern, so ertragen sie ohne Schaden höchste Austrocknung. Iljin führt als derartige „Schutzmittel" an: 1. Je kleiner das Verhältnis von Volumen: Oberfläche, desto geringer sind die Spannungen pro Flächeneinheit, die bei Volumsänderungen auftreten und sich dem Protoplasma mitteilen. Die Gefahr des Zerreißens des Protoplasmas wird so vermindert. Kleine und von der Kugelgestalt abweichende Zellen sind in diesem Sinne „xeromorph". 2. Kleine Vakuolen, womöglich wasserarm: Typus der Ruhezellen. Hier kommt es nur zu geringen Volumsänderungen. Weiters spielt die Dicke des Plasmaschlauches eine Rolle. Eine Dehnung oder Zerrung wirkt sich weniger aus (pro Masseneinheit) als bei dünnem Wandbelag. Schließlich ist auch der osmotische Wert

maßgebend, allerdings nur dann, wenn es sich um geringe Herabsetzung der Dampfspannung der umgebenden Luft handelt.

Wie nun Iljins Untersuchungen (1931) zeigen, sind für den Farn *Notochlaena* fast alle angeführten Punkte hinfällig. Bloß die geringen Schwankungen des Volumens stempeln seine Zellen zu austrocknungsresistenten. Während Zellen von vegetativen Teilen der Blütenpflanzen beim Eintrocknen ihre Durchmesser auf einen Bruchteil verringern — 5—10fache Verkleinerung ist die Regel —, treten hier bloß Unterschiede um das 1,4fache auf. Der Grund für die schwache Größenänderung der Zellen bei Wasserverlust scheint durch die baldige Verfestigung des Zellsaftes gegeben zu sein. Dieser verhindert dann, daß die Zellen eine weitere Schrumpfung durchmachen können. Recht ähnlich dürften die Verhältnisse bei *Polypodium polypodioides*, das Pessin untersuchte, liegen. Es sei zum Vergleich eine Tabelle Pessins angeführt.

Tabelle 3.

1. = Zellen an der Mittelrippe, 2. = Zellen des Randes, 3. = Zellen der Fläche.

		(trocken)		(turgesz.)		prozentuale Differenz	
		Weite	Länge	Weite	Länge	Weite	Länge
Obere Epidermis:	1.	7,5	14,6	19,3	17,8	175,3	21,9
	2.	10,5	16,3	18,7	17,5	78,6	4,5
	3.	7,8	15,8	18,9	18,7	143,8	18,7
Untere Epidermis:	1.	10,5	12,3	18,7	15,2	82,0	23,6
	2.	10,7	12,2	20,6	17,1	92,5	40,1
	3.	11,0	12,4	22,7	14,8	106,3	19,44
Palisaden:	1.	5,0	23,8	13,0	36,4	106,0	52,8
	2.	6,2	22,0	12,5	28,7	101,5	30,5
	3.	5,0	25,0	15,0	40,0	200,0	60,0

Man kann der Tabelle entnehmen, daß die maximale Änderung der Zellweite auf das Doppelte (200%) bei Palisadenzellen erfolgt. In der Längserstreckung schwanken die Zellen gewöhnlich noch viel weniger (vgl. Benecke-Jost II, S. 220ff.).

Welche anatomisch-physiologischen Verhältnisse sind nun unserem Untersuchungsobjekt *Ceterach officinarum* in dieser Hinsicht eigen? Was gibt *Ceterach* die Möglichkeit, ohne Schaden hohe Austrocknung zu vertragen?

Ehe ich auf diese Frage näher eingehe, will ich zunächst noch einige Versuchsreihen über die Austrocknungsfähigkeit an sich mitteilen. Daß *Ceterach* lufttrocken werden kann, wurde bereits erwähnt. Welche hohen Wasserdefizite dabei während des heißen Mediterransommers in

Erscheinung treten, geht aus der letzten Spalte der Tabelle 2 hervor. **93** und **94**% Defizit werden fast durchgehend erreicht. Kann die Austrocknung auch noch weiter getrieben werden, ohne daß die Zellen geschädigt werden? Ich habe, um diese Frage zu klären, *Ceterach*-Wedel in Exsikkatoren über H_2SO_4 verschiedener Konzentration — 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 100% — trocknen lassen. Ausgegangen wurde von frischem Material. Schon nach einem Tage waren die Blätter über den höheren Konzentrationen stark gerollt. Ich entnahm je eine Probe und bestimmte deren Gewicht (F) und gab sie dann in feuchte Kammern. Um irgendwelchen Schädigungen infolge allzu rascher Wasseraufnahme durch die Schnittfläche vorzubeugen, wurden diese erst nach 2tägigem Aufenthalt in der feuchten Kammer in flüssiges Wasser getaucht[1]). Die Blätter sättigten nun voll auf. Nach Bestimmung des Sättigungsgewichtes wurden sie im Ofen bei 105° getrocknet und das Trockengewicht ermittelt.

$\frac{(S-T)\cdot 100}{T}$ = Sättigungswassergehalt in % des Trockengewichtes.

$\frac{(F-T)\cdot 100}{T}$ = Frischwassergehalt nach Exsikkatorbehandlung in % des Trockengewichtes.

oder: $\frac{(F-T)\cdot 100}{S-T}$ = Frischwassergehalt nach Exsikkatorbehandlung in % des Sättigungsgehaltes.

resp.: $\frac{((S-T)-(F-T))\cdot 100}{S-T}$ = Wasserdefizit im exsikkatortrockenen Zustand.

Folgende Tabelle zeigt die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe:

Tabelle 4.

Versuch vom 14.—15. Sept. 1937.

H_2SO_4-Konz. %	Frischwassergehalt in % Trockengewicht	Wasserdefizit
90[2])	16,42	89,0
80	30,10	84,88
50	62,6	56,2

1) Mehrere Versuche ergaben mir, daß *Ceterach*-Wedel aus feuchter Luft im Laufe so viel Wasser aufzunehmen vermögen, daß sie sich aufzurollen beginnen. Man kann auf diese Weise bequem eine langsame Wasseranreicherung in den Zellen erzielen. Werden die Spreiten mit Ausnahme der Schnittfläche in flüssiges Wasser getaucht, werden 1—2 Tage zur Aufsättigung benötigt. Der Versuch zeigt uns nebenbei, daß den zahllosen Spreuschuppen der Blattunterseite sicherlich keine wesentliche Bedeutung für die Wasseraufnahme — etwa bei Taufall — zukommt. Zu ähnlicher Überzeugung kommt überdies auch Pessin für *Polypodium polypodioides*.

2) Die Proben über 100 und 95% sind leider verlorengegangen.

Die Blätter sättigten bei erneuter Wasserzufuhr wieder voll auf, was verständlich erscheint, da die Defizite noch nicht diese Höhe erreicht haben wie am Standorte.

Tabelle 5.

Versuch vom 14.—17. Sept. 1937.

H_2SO_4-Konz. %	Frischwassergewicht in % Trockengewicht	Wasserdefizit
100	6,59	90,15
95	4,49	93,44
90	16,1	92,04
80	5,65	97,46

Dieser 3tägige Versuch zeigt zunächst, daß die Blätter, obwohl recht ähnliche gewählt wurden, nicht gleich rasch das Wasser abgeben, so daß sich z. B. über konzentrierter H_2SO_4 noch mehr Wasser fand als über 95, 90 und 80%iger. Das wesentliche Resultat ist, daß Defizite bis 97,46% ohne Schaden ertragen werden. Denn nach der Aufsättigung waren die Blätter voll turgeszent und zeigten keine Braunfleckung.

Ein weiterer Versuch erstreckte sich über 5 Tage. Er wies folgendes Ergebnis auf:

Tabelle 6.

H_2SO_4-Konz. %	Frischwassergehalt in % Trockengewicht	Wasserdefizit
100	3,62	98,40
90	4,01	98,23
80	5,78	97,65
70	8,60	96,21
60	7,89	96,83

Schon über 60 und 70%iger H_2SO_4 hat der Wassergehalt der Blätter gewaltig abgenommen, über 90% sind nur mehr 4,01% pro Trockengewicht übrig, über 100% 3,62; auf den Sättigungswassergehalt bezogen, ergeben sich Wasserdefizite bis zu **98,40%**! Trotzdem leben die Blätter bei Wasserzufuhr wieder voll auf. Bloß ein Blatt über 100%iger H_2SO_4 hat etwas Schaden genommen, die anderen waren frisch.

Schließlich sei noch eine Versuchserie erwähnt, die sich über 20 Tage erstreckte. Auch hier fand sich das gleiche Resultat: Austrocknung, die 90 und mehr Prozent Wasserverlust verursachte, führte zu keinerlei Trockenschäden der Blätter von *Ceterach*. Auch die Blätter über 100% H_2SO_4 waren diesmal nach Aufsättigung frisch, starben allerdings 2 Tage, nachdem sie ihre Aufsättigung erreichten, ab, während alle anderen, über geringeren Konzentrationen getrockneten, weiterlebten. Da die Blätter über 100% H_2SO_4 die ersten

2 Tage stark turgeszent, außerdem die Unterschiede im Wasserverlust gegenüber den über 95% H_2SO_4 getrockneten gering waren, ist es wohl möglich, daß Schädigungen nicht eine direkte Folge der Austrocknung, sondern des scharfen Wechsels zwischen völliger Austrocknung und nachfolgender vollständiger Aufsättigung sind (vgl. Holle, 1915, S. 76 und Irmscher, 1912, S. 397).

Fassen wir die Ergebnisse dieser Versuche zusammen, so können wir *Ceterach* unbedingt zu den austrocknungsfähigsten Pflanzen rechnen. Sicher ist, daß es ohne Schaden bis 98% seines Wassers verlieren kann, wahrscheinlich, daß bei genügender Vorsicht auch noch mehr Wasser entzogen werden könnte, ohne daß die Protoplaste abgetötet werden.

Welche „spezifischen Merkmale" austrocknungsfähiger Zellen kommen nun *Ceterach* zu?

Der osmotische Wert ist niedrig. Die Durchschnittswerte frischer Blätter, kryoskopisch gemessen, betrugen 12,52 Atm., d. i. in Prozenten relativer Dampfspannung 99,1%. Grenzplasmolytische Bestimmungen an oberen und unteren Epidermen ergaben 0,6 GM Rohrzucker 17,77 Atm. oder ca. 98,7% rel. Dampfspannung. Die Depression ist somit von ganz untergeordneter Bedeutung, wenn wir bedenken, daß die relative Luftfeuchtigkeit im Mediterrangebiet an den sonnigen Sommertagen meist auf 40—50% absinkt. Auch die Form und Größe der Zellen scheint keine besonderen Anpassungen — wenigstens nicht allgemein — zu zeigen. Wie erwähnt, kann sowohl Kleinheit der Zellen wie starke Abweichung von der Kugelgestalt zu Oberflächenvergrößerung bei gegebenem Volumen führen. Während die stark austrocknungsfähigen Zellen von Moosen tatsächlich sehr klein sind, erreicht die Größe der *Ceterach*-Zellen ein ziemliches Ausmaß. Die Palisaden sind im Durchschnitt 68,700 μ^3 groß, in einzelnen Schnitten wurde für die innere Palisadenschicht sogar 95,550 μ^3 im Mittel festgestellt. Das Volumen der oberen Epidermiszellen ist ungefähr 35,000 μ^3; das der unteren schwankt auch um diesen Wert.

In Hinsicht der Zellform können wir zwar ansehnliche Abweichungen von der Kugelgestalt bei Epidermiszellen und Schwammparenchym sehen, dagegen sind die Palisadenzellen oft annähernd recht kugelig. Kommt es nur zur Ausbildung einer Palisadenschicht, so sind zwar die Zellen langgestreckt; das Verhältnis von Durchmesser zur Länge ist rund 1:4 (auch Schmidt gibt es so an). Sind aber zwei Palisadenreihen vorhanden, dann beträgt es 1:2,6—1:2,2, im Extremfall sogar bloß 1:1,3. In diesem Fall kurzer Zylinder ist die Verringerung des V/O gegen das einer gleichlumigen Kugel gering.

Zellform und Zellgröße gewinnen naturgemäß als Gefahrmoment oder Schutzeinrichtung beim Austrocknen dann erst an Bedeutung, wenn die Zelle starken Volumschwankungen unterliegt. Wird diese durch irgendwelche Einrichtungen hintangehalten, so stört auch ein großes Volumen oder Kugelgestalt nicht, wenn sich tatsächlich die Trockenschäden als mechanische Schädigungen erklären lassen. Für *Notochlaena* scheint dies auch zu stimmen. Denn wie schon erwähnt, sind die Zellen zwar groß, dagegen die Volumschwankungen im Verhältnis zu denen vegetativer Zellen von Blütenpflanzen recht gering. Bei *Ceterach* liegen die Verhältnisse in dieser Hinsicht auch günstiger als bei Blütenpflanzen, doch sind die Volumänderungen bedeutender als bei *Notochlaena*. Schneiden wir ein trockenes *Ceterach*-Blatt quer und beobachten in Paraffinöl, so erhalten wir ein kaum entwirrbares Bild. Die Zellwände, besonders die der oberen Epidermis, sind sehr stark verbogen und verknittert. Ich gebe in Fig. 3 und 4 das Bild der oberen Epidermis im gesättigten und trockenen Zustande wieder. Ein Vergleich der beiden Bilder zeigt, daß besonders die äußeren und inneren Membranen der Epidermis verbogen sind; meist erfahren die äußeren infolge der Aufwärtsrollung des Blattes derartige Biegungen, daß die Mitte der Zelle kammartig vorgewölbt wird. Das Zellumen wird bei dieser Deformation sehr eingeengt, da die hochgebogenen Wände im Extremfall sogar aneinanderstoßen. Trotzdem gehen die Zellen beim Anfeuchten in ihre Ausgangsform zurück und leben weiter. Quantitativ sind wohl nur Angaben über Änderung von Durchmesser und Höhe möglich, die Volumina sind infolge der welligen Gestalt kaum richtig erfaßbar. Die Palisaden werden nur im Querschnitt stark eingeengt, sehr wenig

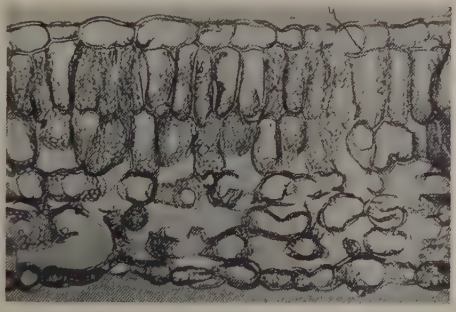


Fig. 3. Querschnitt durch das frische Blatt.

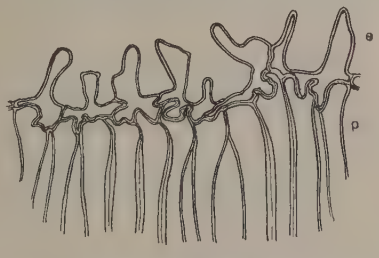


Fig. 4. Querschnitt durch das trockene Blatt, etwas schematisiert; *e* obere Epidermis; *p* Palisaden.

oder gar nicht der Länge nach; in der Längsrichtung sind sie nur manchmal etwas verbogen. Schwammparenchym und untere Epidermis (auf der Figur nicht zu sehen) erfahren eine Deformation, die besonders die zur Oberfläche senkrechten Wände betrifft. Über die quantitativen Größenverschiebungen beim Anfeuchten sei eine kleine tabellarische Zusammenstellung wiedergegeben. Volumänderungen sind nur für die zylindrischen Palisadenzellen meßbar und mit relativ geringen Fehlern auch für die Schließzellen.

Tabelle 7.

Zellgattung	Durchmesser trocken,	i. Wasser	Länge (Höhe) trocken,	i. Wasser	Volumen trock.: Vol. i. Wasser
Obere Epidermis	1	2,4	1	1,4	—
	1	3,1	—		—
Palisaden	1	2,05	1	1,00	1 : 4,17
	1	1,86	1	1,08	1 : 3,84
	1	1,6	1	1,17	1 : 3,00
	1	2,00	1	1,00	1 : 4,00
Schwamm-parenchym.....	1	1,57	1	1,29	—
	1	1,58	—		—
	1	2,00	—		
	1	1,3			
Untere Epidermis	1	1,48	—		
	1	1,91	minimal		—
Schließzellen	1	1,56	1	1	1 : 2,63

Die Größenänderungen der Zellen sind nach diesem Befunde doch recht bedeutend, zumindest weitaus größer als bei *Notochlaena*. Die Durchmesser variieren um 50—100%. Das führt bei relativ konstanten Längenwerten bei den zylindrischen Palisaden zu durchschnittlich vierfacher Volumvergrößerung. Die Volumdifferenzen würden aber sicherlich noch weit größer sein, wenn *Ceterach* in der Art des Zellsaftes sowie eigenartigen Wandbildungen der Palisaden nicht Einrichtungen hätte, die dies verhindern. Wie an jedem Flächenschnitt sofort auffällt, und wie auch von Schmidt bereits erwähnt, kommt den Palisaden eine kollenchymatische Verdickung zu, die jene Teile der Wand, welche an Interzellularen grenzen, unverdickt läßt, dagegen die Berührungsstellen mit der Nachbarzelle verdickt hat. Diese Verdickungen durchziehen die Zellen in Form derber, betüpfelter Leisten ihrer Länge nach und gleichen im Querschnitt linsenförmigen bis kugeligen Wülsten (Fig. 5 und 6). Ein derartiges Kollenchym finden wir weder in den grundlegenden Arbeiten von Müller (1890) und Cohn (1892) noch in den geläufigen

Lehrbüchern beschrieben. Meines Wissens schildert es außer Schmidt nur Giesenhagen (1901) für *Niphobolus*-Arten[1]); Schmidt ist der Ansicht, daß diese Aussteifungen dem Rollmechanismus zugute kommen. Das mag sein; daß aber die Rollung auch ohne diese Leisten in derselben Weise erfolgt, zeigt der Versuch mit jungen Blättern, die diese Leisten noch nicht besitzen. Wesentlich ist indes, daß diese jungen Blätter schon beim Austrocknen im Zimmer absterben. Mir scheint es daher, daß diese leistigen Verdickungen der Membran auch als Schutz für die Palisaden gegen gänzliche Zerknitterung beim Austrocknen wirken. Denn es kommt der Länge nach überhaupt zu keiner Volumänderung, und auch im Querschnitt kann das Zellumen nur soweit eingeengt werden, bis die Ränder der verdickten Wandteile zusammentreffen.

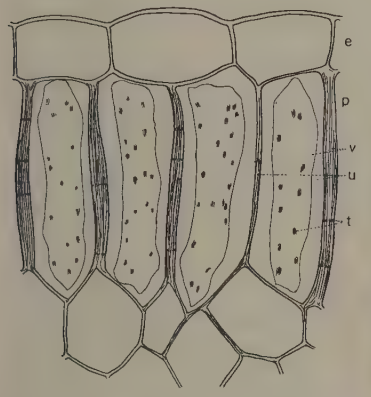


Fig. 5. Querschnitt durch das frische Blatt. v = leistige Verdickungen der Seitenwände der Palisaden in Aufsicht und im Längsschnitt; u = unverdickte Wandstellen; T = Tüpfel.

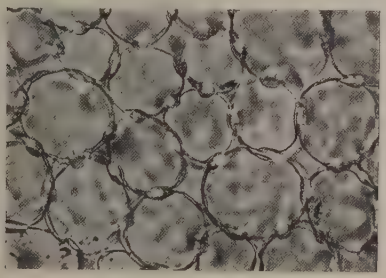


Fig. 6. Flächenschnitt vom frischen Blatt. Verdickungen der Palisadenwände im Querschnitt.

Vom anatomischen Standpunkt aus muß noch erwähnt werden, daß sicher auch der starken Entwicklung der Interzellularräume — auch im Bereiche der Palisaden ist das Verhältnis von Zellumen zu Interzellularraum 3 : 1 — eine gewisse Bedeutung als Mittel gegen mechanische Zerstörungen der eintrocknenden Blattzellen zukommt. Die geräumigen Interzellularen ermöglichen eine gewisse Verschiebbarkeit der Zellen unabhängig voneinander. Es werden dadurch Spannungen vermieden, die sich sonst voll auf die Zellen selbst auswirken würden.

1) Meines Wissens wurde bisher für diesen Parenchymtyp kein Name geprägt. Da die komplementäre Verdickung Eckenkollenchym (statt Kantenkollenchym) genannt wird, möchte ich in Angleichung an diesen Terminus, ebenfalls vom Bilde des Querschnittes ausgehend, für den oben beschriebenen Typus Seitenkollenchym (anstatt Flächenkollenchym) in Vorschlag bringen.

Sicherlich wesentlicher als alle bisher angeführten Einrichtungen scheint mir aber die Konstitution des Zellsaftes. Iljin fand für *Notochlaena* gleiches: daß nämlich der Zellsaft bei Wasserabgabe allmählich fest wird und dabei doch ein recht ansehnliches Volumen beibehält[1]). Es ist auf diese Weise der Volumverminderung beim Eintrocknen eine Grenze gesetzt, die eben noch hoch genug ist, daß das Protoplasma noch nicht von der Wand losgerissen und geschädigt wird.

Iljin hat bei *Notochlaena* festgestellt, daß sich der Zellsaft lebhaft mit Neutralrot anfärbt, ohne die Farbe beim Abtöten in üblicher Weise zu verlieren. *Ceterach* verhält sich in dieser Hinsicht ganz gleich. Auch hier ist starke Speicherung des Neutralrotes und Festhalten desselben nach dem Tode feststellbar. Löst man Neutralrot in absolutem Alkohol und setzt es Schnitten ausgedorrter Blätter zu, so färben sich die festen Zellsäfte rapid an. Man kann auf diese Art erst richtig die Zellformen studieren, wie sie im Trockenzustand aussehen. Auch sieht man so viel leichter, daß der Zellsaft wirklich fest ist, denn er ist des öfteren in mehrere Stücke gebrochen (vgl. auch die Figur bei Iljin 1931, S. 327).

Chemisch hat Iljin den Zellsaft von *Notochlaena* nur auf Zucker untersucht[2]). Die Natur der nichttrocknenden Substanz blieb im unklaren.

Die Tatsache, daß von diesen Zellsäften Neutralrot, von Gerbstoffen Methylenblau stark gespeichert wird (vgl. Klein, Hdb. der Pflanzenanalyse II/S. 349 ff.), ferner die Ähnlichkeit im Aussehen der festen Zellsäfte mit den Inklusen bei *Ceratonia*, brachte mich auf den Gedanken, bei *Ceterach* auf Gerbstoffe zu prüfen. Tatsächlich zeigte sich nun, daß auch Methylenblau ebenso intensiv vom Zellsaft absorbiert wird und auch nach dem Tode festgehalten wird wie Neutralrot. Die übliche Eisenreaktion ergab Grünfärbung. Zusatz von 0,5 % Koffein führte zu typisch braunen Fällungen. Fügen wir dem Präparat schwefelsaures p-Dimethylaminobenzaldehyd zu, so erhalten wir eine lebhafte Rötung des Zellsaftes, wengleich diese nicht so grell ist wie bei den *Ceratonia*-Inklusen. Bekanntlich geht diese Reaktion speziell auf Phlorogluzingerb-

1) Dieser Zustand wäre dann vergleichbar mit den resistenten Samen- und anderen Ruhezellen.

2) Zuckernachweis mit Fehling kann aber nach Klein (II, S. 352) nur in Abwesenheit von Gerbstoffen geführt werden, da auch diese reduzieren. Außerdem ist zu beachten, daß nach dem Verfahren von Iljin nicht nur die freien Zucker, sondern auch jene, die als Glykosidkomponente der Gerbstoffe vorhanden sind und durch die Hydrolyse freigesetzt werden, mitbestimmt werden.

stoffe (Katechingerbstoffe). Daß es sich tatsächlich um Gerbstoffe dieser Gruppe handelt, bestärkt auch die grünende Wirkung der Eisensalze. Untersuchungen von Herbarmaterial von *Notochlaena* führte zum gleichen Ergebnis. Wir haben es somit mit einer äußerst starken Anreicherung von Katechingerbstoffen im Zellsaft von *Ceterach* und *Notochlaena* zu tun, die aller Wahrscheinlichkeit den voluminösen, festen Zellsaft ausmachen. Die Gerbstoffe sind bekanntlich kolloidal gelöst (vgl. Hauser 1937); der Wechsel des Aggregatzustandes des Zellsaftes ist durch deren Übergang vom Sol- zum Gelzustand und umgekehrt verständlich. Phlorogluzingerbstoffe und Spaltprodukte derselben (Phlorogluzin und Protocatechusäure) sind auch bei *Filix mas* gefunden worden (vgl. Patschovsky 1920, S. 311). Mit dieser Feststellung der Gerbstoffhäufung im Zellsaft steht auch der Befund im schönsten Einklang, daß alle Proben bei den Schließzellen negativ ausgefallen sind. Diese ließen sich weder mit Neutralrot oder Methylenblau noch mit p-Dimethylaminobenzaldehyd anfärben und stachen daher immer hellgrün aus der gefärbten Umgebung der übrigen Zellen ab. Wie nun Linsbauer (1930, S. 149) schreibt, werden Schließzellen ganz allgemein gerbstofffrei gefunden. Hamorak (1915) fand allerdings z. B. bei *Rheum* auch die Schließzellen gerbstoffhältig, und auch Metzner (1930) gibt eisengrünende Stoffe an, wozu aber auch alle Flavonderivate zählen. Für Farne ist aber nach Patschovskys (S. 312) Angaben tatsächlich gerbstoffreier Zellsaft der Schließzellen charakteristisch.

Daß die Schließzellen von *Ceterach* trotzdem im Trockenzustand festen Zellsaft haben, ist darnach sehr unwahrscheinlich. Es gelang mir auch niemals, solchen festzustellen.

Zusammenfassung.

Austrocknungsversuche an *Ceterach officinarum* ergaben, daß Wasserdefizite bis 98 % ohne Schädigung der Blätter ertragen werden können. Maßgebend scheint für die große Austrocknungsfähigkeit der im trocknenden Blatt voluminösbleibende, sich verfestigende Zellsaft. Bei den Palisadenzellen dürfte auch die eigenartige kollenchymatische Zellwandverdickung von Bedeutung sein, indem sie allzu starke Schrumpfungen der Zellen und das Losreißen des Protoplasten von der Zellwand verhindert. Bei Epidermiszellen und Schwammparenchym scheint sich in ähnlicher Weise die von der Kugelform abweichende Zellgestalt auszuwirken. Chemische Prüfung des Zellsaftes ergab eine starke Anreicherung von Phlorogluzingerbstoffen, welche die voluminöse Substanz des trockenen Zellsaftes zum wesentlichen Teile ausmachen.

Literaturverzeichnis.

Benecke-Jost, Pflanzenphysiologie. 4. Aufl., Jena 1914. — Borzi, A., Xerotropismo nelle felci. Nuovo Giorn. Bot. Ital. **10,** 452 (1888). — Chien Ren Chu, Der Einfluß des Wassergehaltes der Blätter der Waldbäume auf ihre Lebensfähigkeit, ihre Saugkraft und ihren Turgor. Flora, N. F., **30,** 384 (1936). — Cohn, J., Beiträge zur Physiologie des Kollenchyms. Jahrb. f. wiss. Bot. **24,** 145 (1892). — Engler-Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien. 1/4 (1902). — Giesenhagen, K., Die Farngattung Niphobolus. Jena 1901. — Guttenberg, H. v., Bewegungsgewebe, in Hdb. d. Pfl.anatomie v. Linsbauer, Abt. 1, T. 2, **V,** 105. Berlin 1916. — Hamorak, N., Beiträge zur Mikrochemie des Spaltöffnungsapparates. Sitz.ber. d. k. k. Akad. Wiss. Wien, mathem.-naturw. Kl., Abt. 1, **124,** 1 (1915). — Hann, J., Handbuch der Klimatologie, **3,** Abt. II, 1887. — Hauser, W., Über den Einfluß von Gerbstoffen auf Permeabilität und Osmose. Protoplasma **28,** 200 (1937). — Hegi, G., Flora von Mitteleuropa, **1,** 26. München o. J. — Holle, H., Untersuchungen über Welken, Vertrocknen und Wiederstraffwerden. Flora, N. F., **8,** 73 (1915). — Iljin, W., Über die Austrocknungsfähigkeit des lebenden Protoplasmas der vegetativen Pflanzenzellen. Jahrb. wiss. Bot. **66,** 947 (1927). — Ders., Die Ursachen der Resistenz von Pflanzenzellen gegen Austrocknen. Protoplasma **10,** 379 (1930). — Ders., Austrocknungsresistenz des Farnes Notochlaena marantae R. Br. Protoplasma **13,** 322 (1931). — Ders., Über Absterben der Pflanzengewebe durch Austrocknung und über ihre Bewahrung vor dem Trockentode. Protoplasma **19,** 414 (1933). — Irmscher, E., Über die Resistenz der Laubmoose gegen Austrocknung und Kälte. Jahrb. wiss. Bot. **50,** 387 (1911). — Lepeschkin, W. W., Zell-Nekrobiose und Protoplasmatod. Protoplasma-Monographien, **12.** Berlin 1937. — Linsbauer, K., Die Epidermis, in Hdb. d. Pfl.anatomie v. Linsbauer, Abt. 1, T. 2, **4,** 149. Berlin 1930. — Müller, C., Ein Beitrag zur Kenntnis der Formen des Kollenchyms. Ber. deutsch. Bot. Ges. **8,** 150 (1890). — Oppenheimer, H., Zur Kenntnis der hochsommerlichen Wasserbilanz mediterraner Gehölze. Ber. deutsch. Bot. Ges. **50a,** 185 (1932). — Patschovsky, N., Studien über Nachweis und Lokalisierung, Verbreitung und Bedeutung der Oxalsäure im Pflanzenorganismus. B. B. C. **37**/1 259 (1920). — Pessin, L., A physiological and anatomical study of the leaves of Polypodium polypodioides. Am. Journ. of Bot. **11,** 370 (1924). — Rahm, G., Die Trockenstarre (Anabiose) der Mooswelt. Biol. Zentralbl. **46,** 452 (1926). — Renner, O., Theoretisches und Experimentelles zur Kohäsionstheorie der Wasserbewegung. Jahrb. für wiss. Bot. **56,** Pfefferfestschr., 617 (1915). — Ders., Zur Kenntnis des Wasserhaushaltes javanischer Kleinepiphyten. Planta **18,** 215 (1933). — Schmidt, W., Über den Einrollungsmechanismus einiger Farnblätter. B. B. C. **26**/1, 476 (1910). — Schröder, G., Über die Austrocknungsfähigkeit der Pflanzen. Untersuch. Bot. Inst. Tübingen, **2,** 1 (1886). — Vassiljev, I., Über den Wasserhaushalt von Pflanzen der Sandwüste im südöstlichen Kara-Kum. Planta **14,** 225 (1931). — Wittrock, V., Biologiska ormbunk studier. Acta Horti Bergiani **I,** 3 (1891). — Zeuch, L., Untersuchungen zum Wasserhaushalt von Pleurococcus vulgaris. Planta **22,** 614 (1934).

Kurze Mitteilungen über Oenothera.

II. Zu den Chromosomenformeln der Komplexe albicans, curvans, flectens, gaudens (rubens), rigens [1]).

Von **O. Renner.**

Dem Eizellenkomplex *rigens* der *O. syrticola* (*muricata*) habe ich die Formel 1·2 3·4 5·6 9·10 13·12 7·11 8·14 oder 7·14 8·11 gegeben (1933, S. 241). Cleland hat die Entscheidung zugunsten der ersten Möglichkeit treffen können (1937, S. 477). Die Formel für *rigens* ist also endgültig: 1·2 3·4 5·6 7·11 8·14 9·10 13·12. Von hier aus werden auch verschiedene andere endgültige Festsetzungen möglich.

Die Chromosomenkonfigurationen, die in den folgenden Überlegungen zusammen mit den züchterischen Erfahrungen verwertet werden, sind folgende:

albicans mit *curvans* 2, 2, 4, 6; mit *flavens* 2, 12; mit *flectens* 4×2, 6; mit *gaudens* (*rubens*) 6, 8; mit *hHookeri* 14; mit *velans* 14;

curvans mit *flectens* 2, 2, 4, 6; mit *gaudens* (*rubens*) 14; mit *hHookeri* 6, 8; mit *flavens* 2, 6, 6; mit *rigens* 14; mit *velans* 14;

flavens mit *flectens* 2, 2, 4, 6; mit *gaudens* (*rubens*) 2, 12; mit *hHookeri* 5×2, 4; mit *rigens* 2, 2, 4, 6; mit *velans* 4, 4, 6;

flectens mit *gaudens* (*rubens*) 14; mit *hHookeri* 4, 4, 6; mit *rigens* 2, 4, 8; mit *velans* 4, 4, 6;

gaudens (*rubens*) mit *hHookeri* 2, 2, 10; mit *rigens* 4×2, 6; mit *velans* 2, 12;

rigens mit *hHookeri* 4×2, 6; mit *velans* 3×2, 8.

Curvans, der Pollenkomplex der *O. syrticola*, hat mit *rigens* kein Chromosom gemeinsam. Ein Chr.[2]), das den Marginationsfaktor M enthält, ist sicher als 3·2 bestimmt (R. 1933, S. 241). Einem weiteren Chr., das auch in *albicans* und in *flectens* vorkommt und das die Behaarungsallele Pil-pil enthält, habe ich mit Vorbehalt die Enden 7 und 9 gegeben (1933, S. 239), weil es in *flavicurva* wie in *flaviflexa* einem 6-Ring angehört, der von *flavens* die Chr. 7·8 und 9·10 enthält und als drittes ein Chr., das in *flavicurva* ein anderes ist als in *flaviflexa*. Cleland findet nun, daß *curvans* 7·10 oder 9·8 besitzt, und weiter, daß *albicans* 7·10 8·13

1) Die erste Mitteilung in Flora **130,** 441—453 (1936). — Der Deutschen Forschungsgemeinschaft habe ich wieder für ihre Unterstützung zu danken.

2) Chr. bedeutet hier und weiterhin Chromosom bzw. Chromosomen.

oder 7·14 9·8 enhält (1937, S. 497). Nach Catcheside (1937, S. 564) ist in *albicans* von diesen beiden Möglichkeiten die zweite verwirklicht, also erhält das Pil-Chr. die Formel **9·8**. Die weitere Analyse von *curvans* verlangt die vorherige Festsetzung der Formel für *flectens*, den Pollenkomplex der *O. atrovirens* (=*cruciata* de Vries).

Flectens enthält sicher 1·4 mit Fl, 3·2 mit M, und ein Chr., das auch in *rigens* vorkommt (R. 1933, S. 240). Als dieses habe ich 13·12 bestimmt; Cleland läßt die Wahl zwischen 7·11, 8·14 und 13·12 offen (1937, S. 497). Mit 13·12 ist 11·14 in dem 4-Ring enthalten, den *flectens* mit *flavens* und *velans* bildet (R. 1933, S. 240). Die letzten 3 Chr. sind in dem 6-Ring enthalten, den *flectens* mit *flavens* und *velans* erzeugt. Von *flavens* enthält dieser Ring 5·6 7·8 9·10, von *velans* 5·8 7·6 9·10. Da wir jetzt wissen, daß *flectens* 9·8 enthält, sind die beiden anderen Chr. als **5·7** und **6·10** zu identifizieren; eine andre Wahl ist nicht möglich. Die Formel für *flectens* ist also 1·4 3·2 5·7 6·10 9·8 11·14 13·12. Die Forderung, daß *flectens* mit *rigens* ein Paar, einen 4-Ring und einen 6-Ring bildet, ist mit dieser Formel erfüllt.

Für *albicans*, den Eizellenkomplex der *O. biennis* und der *O. suaveolens*, hat Catcheside wie erwähnt 7·14 und 9·8 ermittelt. Der Komplex bildet mit *flectens* 4 freie Paare. Von diesen sind identifiziert 1·4 mit Fl—fl (R. 1933, S. 243) und 9·8 mit Pil—pil. 3·2 kommt nicht in Betracht, weil *albiflexa* nicht nach M—m spaltet; 5·7 und 11·14 kommen nicht in Betracht, weil *albicans* 7·14 besitzt. Also bleiben **6·10** und **13·12**. Das letztgenannte Chr. ist auch durch andere Überlegungen gefunden (R. 1933, S. 243). *Albicans* bildet mit *flectens* noch einen 6-Ring, der von *flectens* die restlichen Chr. 3·2 5·7 11·14 in sich schließen muß, somit von *albicans* 7·14 enthält. Die beiden letzten Chr. von *albicans* sind also *2·5* und *3·11* oder *2·11* und *3·5*. Die Formel für *albicans* lautet somit:

$$1\cdot4 \left\{\begin{matrix} 2\cdot5\ 3\cdot11 \\ 2\cdot11\ 3\cdot5 \end{matrix}\right\} 6\cdot10\ 7\cdot14\ 9\cdot8\ 13\cdot12.$$

Curvans hat mit *flectens* das Chr. 3·2 gemeinsam, mit *flectens* und mit *albicans* das Chr. 9·8, und mit *albicans* noch ein weiteres Chr., das in *flectens* nicht vorkommt, also nicht 1·4, nicht 6·10, nicht 13·12. Es könnte von *albicans* also 7·14 haben oder eines von *2·5 3·11* bzw. von *2·11 3·5*. Da *curvans* 3·2 besitzt, bleibt nur **7·14** übrig.

Der eine 6-Ring der *flavicurva*, der von *flavens* 7·8 und 9·10 enthält und die Spaltung nach der Blattbreite vermittelt (R. 1925, S. 16 ff.), muß, weil *curvans* 7·14 besitzt, von *flavens* noch 13·14 enthalten, nicht 11·12, wie ich früher (1933, S. 241) angenommen habe. Von *curvans*

schließt dieser Ring außer 7·14 noch 9·8 ein, als drittes Chromosom ergibt sich ohne Wahl **10·13.**

Curvans bildet mit *albicans* und mit *flectens* je einen 4-Ring. Daß dieser Ring in beiden Verbindungen derselbe ist, ist so gut wie sicher. 1·4 und 13·12 von *albicans* kann dieser Ring nicht enthalten, weil *curvans* 10·13 hat; 1·4 und 6·10 ebenfalls nicht, aus demselben Grund; dann bleibt als dritte und letzte Möglichkeit, daß er von *albicans* und *flectens* 6·10 und 13·12 enthält, folglich von *curvans* 10·13 und **6·12.**

Mit *flectens* bildet *curvans* noch einen 6-Ring, der von *flectens* enthalten muß 1·4 5·7 11·14 (alle anderen Chr. sind vergeben), von *curvans* 7·14 und dazu *1·5 4·11* oder *1·11 4·5.* Ebenso ergibt sich für den zweiten 6-Ring der *flavicurva*, der von flavens 1·4 5·6 11·12 enthält, als Anteil von *curvans* 6·12 und dazu *1·5 4·11* oder *1·11 4.5.* Beide Varianten von *curvans* ergeben, wie verlangt, mit *rigens* einen 14-Ring. Die Formel für *curvans* lautet also:

$$\left.\begin{matrix} 1{\cdot}5\ 4{\cdot}11 \\ 1{\cdot}11\ 4{\cdot}5 \end{matrix}\right\} 3{\cdot}2\ 6{\cdot}12\ 7{\cdot}14\ 9{\cdot}8\ 10{\cdot}13.$$

Der 6-Ring der *albicurva* enthält dann: von *albicans* 1·4 und dazu *2·5 3·11* oder *2·11 3·5*, von *curvans* 3·2 und dazu *1·5 4·11* oder *1·11 5·4.* Alle vier Kombinationen ergeben Ringschlüsse, wie verlangt, eine weitere Einengung der Möglichkeiten ist also auf diesem Weg nicht zu erreichen. Ebensowenig läßt sich aus den Konfigurationen der Verbindungen von *albicans* mit *flavens*, *[h]Hookeri*, *velans* ein Schluß darauf ziehen, welche der beiden Varianten in *albicans* und in *curvans* verwirklicht ist. Die Forderung, daß *albicans* mit *[h]Hookeri* und mit *velans* einen 14-Ring, mit *flavens* ein Paar und einen 12-Ring bildet, und daß *curvans* mit *velans* einen 14-Ring, mit *[h]Hookeri* einen 8- und einen 6-Ring bildet, sind natürlich erfüllt.

Rubens, der Pollenkomplex von *O. biennis* (so gut wie identisch mit *gaudens* von *O. Lamarckiana*), bildet mit *rigens* 4 Paare. Darunter sind sicher 1·2 mit R und 5·6 mit sp. Die zwei weiteren Paare sind unter 7·11, 8·14, 13·12 zu suchen (Cleland 1937, S. 493). 13·12 kommt nicht in Betracht, weil in *albicans* vorhanden. Also bleiben **7·11** und **8·14.**

Emerson führt als eine der möglichen Kombinationen von *rubens* an: 3·9 4·12 7·11 8·14 10·13. 10·13 scheidet jetzt aus, weil in *curvans* vorhanden. Statt mit 13 könnte das 10-Ende mit 3, mit 4 oder mit 12 verbunden sein. Wird 10·3 gewählt, so ergibt sich für *rubens* aus der Kombination mit beiden Varianten von *albicans* der Besitz des Chr. 13·12, das in *albicans* vorkommt. Also ist 10·3 nicht möglich.

Dagegen sind 10·4 und 10·12 im Hinblick auf das Verhalten gegenüber *albicans* beide möglich. Und dann ergibt sich: Wenn *rubens* 10·4 3·13 9·12 hat, muß albicans 2·5 3·11 haben, und *curvans* kann 1·5 4·11 oder 1·11 5·4 haben. Wenn *rubens* 10·4 3·12 9·13 hat, muß *albicans* 2·5 3·11 und *curvans* 1·11 5·4 haben. Wenn *rubens* 10·12 3·9 4·13 hat, muß *albicans* 2·5 3·11 und *curvans* 1·5 4·11 haben. Wenn *rubens* 10·12 3·13 4·9 hat, muß *albicans* 2·11 3·5 und *curvans* 1·11 5·4 haben. Die zweite Variante von *albicans* bzw. von *curvans* gibt jeweils nicht die richtigen Bindungen mit *rubens*.

Alle vier Varianten von *rubens* geben mit *flavens*, *hHookeri*, *rigens*, *velans* die geforderten Bindungen.

Die Formel für *rubens* ist also bis jetzt:

$$1\cdot2\ \ 5\cdot6\ \ 7\cdot11\ \ 8\cdot14 \begin{cases} 10\cdot12 \begin{cases} 3\cdot13\ \ 9\cdot12 \\ 3\cdot12\ \ 9\cdot13 \end{cases} \\ 10\cdot4 \begin{cases} 3\cdot9\ \ 4\cdot13 \\ 3\cdot13\ \ 4\cdot9 \end{cases} \end{cases}$$

Wenn also für *albicans* etwa 2·5 und für *rubens* etwa 3·9 gefunden würde, wären damit die Formeln für *albicans*, *curvans* und *rubens* gleichzeitig ermittelt.

Zur Probe sollen noch die Konfigurationen einiger abgeleiteter Verbindungen aus den Formeln vorausgesagt werden.

1. *albicans* · b-*flavens* aus *O. biennis* × *flavicurva*. Der Mischkomplex b-*flavens* hat von *flavens* 4 Chromosomen und von *curvans* das Triplett 7·14 9·8 10·13. Somit ergibt sich:

albicans ⟨1·4⟩ ⟨7·14⟩ ⟨9·8⟩ ⟨*2·5* 6·10 13·12 *11·3*⟩
b-*flavens* ⟨1·4⟩ ⟨7·14⟩ ⟨9·8⟩ ⟨5·6 10·13 12·11 3·2⟩

Gefunden sind 3 Paare und ein 8-Ring.

2. *albicans* · B-*curvans* aus *O. biennis* × *flavicurva*. Der Mischkomplex B-*curvans* hat, als Korrelat von b-*flavens*, 4 Chromosomen von *curvans* und von *flavens* das Triplett 7·8 9·10 13·14. Somit ergibt sich:

albicans ⟨1·4 *11·3* *2·5*⟩ ⟨6·10 9·8 7·14 13·12⟩
B-*curvans* ⟨*4·11* 3·2 *5·1*⟩ ⟨10·9 8·7 14·13 12·6⟩

Gefunden sind (vor der Aufstellung der Formel für *curvans*, und damals unerwarteter Weise) ein Ring von 6 und einer von 8 Gliedern.

3. *rigens* · B-*curvans* aus *O. syrticola* × *flavicurva*.

rigens ⟨1·2 3·4 11·7 8·14 13·12 6·5⟩ ⟨9·10⟩
B-*curvans* ⟨2·3 *4·11* 7·8 14·13 12·6 *5·1*⟩ ⟨9·10⟩

Gefunden sind ein Paar und ein 12-Ring.

4. *velans* · B-*curvans* aus *O. Lamarckiana* × *flavicurva*.

velans ⟨1·2 3·4 11·12 6·7 8·5⟩ ⟨9·10⟩ ⟨13·14⟩
B-*curvans* ⟨2·3 *4·11* 12·6 7·8 *5·1*⟩ ⟨9·10⟩ ⟨13·14⟩

Gefunden sind zwei Paare und ein 10-Ring.

5. Die Formen der F_2 von *h Hookeri* · *curvans*. Die Konfiguration der F_1 ist nach der für *curvans* aufgestellten Formel:

h Hookeri ⟨1·2 3·4 11·12 6·5⟩ ⟨7·8 9·10 13·14⟩
curvans ⟨2·3 *4·11* 12·6 *5·1*⟩ ⟨8·9 10·13 14·7⟩

und zwei Ringe von 8 bzw. 6 Gliedern sind auch wirklich vorhanden. In der F_2 treten auf: homozygotische *Hookeri*, mit 7 Paaren; etwas breitblättrige MB-*curva*; und etwas schmalblättrige, schlanke, spreizkelchige mb-*Hookeri*, sicher aufrecht[1]). Der Marginationsfaktor M von *curvans* liegt im Chromosom 3 · 2, die MB-*curva* der F_2 muß also von *curvans* denselben 8-Ring besitzen wie die F_1, und dazu die *Hookeri*-Chromosomen 7 · 8 9 · 10 13 · 14 doppelt. Gefunden sind ein 8-Ring und 3 Paare. Die schlanke b-*Hookeri* muß entsprechend denselben 6-Ring haben wie die F_1 und die *Hookeri*-Chromosomen 1 · 2 3 · 4 5 · 6 11 · 12 doppelt. Gefunden sind ein 6-Ring und 4 Paare.

Ein einziges Mal wurde eine schlanke mb-*Hookeri* mit stark nickenden Stengeln gefunden, und in der Nachkommenschaft dieser Pflanze trat derselbe Typus wieder auf. Hier muß der Cu-Faktor von *curvans* durch crossing over auf *h Hookeri* übergegangen sein. Cu ist in der *Hookeri-curva* normalerweise mit M gekoppelt, liegt also mit dem M-Chromosom 3 · 2 im 6-Ring. Welches Chromosom von *h Hookeri* das Cu aufgenommen hat, wird sich ermitteln lassen: wenn 1 · 2, muß es gegen R von *rubens* getauscht werden, und in diesem Fall wäre das 1-Ende als der Träger von Cu erkannt, weil das 2-Ende nicht in Betracht kommt; wenn 3 · 4, wird es gegen P bzw. p von *velans* getauscht, und Cu liegt dann im 4-Ende; wenn 5 · 6, gegen sp von *rubens*; wenn 11 · 12, gegen def (defekte Kelche) von *flavens*.

6. *albicans* · b-*h Hookeri* aus *O. biennis* × b-*Hookeri* schlank.

albicans ⟨7·14⟩ ⟨9·8⟩ ⟨1·4 *3·11* 12·13 10·6 *5·2*⟩
b-*h Hookeri* ⟨7·14⟩ ⟨9·8⟩ ⟨4·3 11·12 13·10 6·5 2·1⟩

Gefunden sind 2 Paare und ein 10-Ring (dieser mitunter zerrissen). Weil unter den Paaren 9 · 8 ist, kann vorausgesagt werden, daß die Form nach Pil -pil spalten muß.

1) Bei der ersten Aufzucht war der spreizkelchige Typus aufrecht gefunden worden (1925, S. 112 ff.), bei der zweiten schien er nicht selten zu nicken (1936, S. 270). Die erste Beobachtung war die richtige, die Krümmungen der dünnen Stengel im Sommer 1935 müssen zufällig gewesen sein. Entsprechend haben die MB-Formen nickende Stengel, aber die Krümmung der Gipfel ist schwach und kurz dauernd.

7. P-*albicans* · *flectens* aus PP-*albivelutina* × *atrovirens*. Die gewöhnliche Pp-*albivelutina* aus *O. biennis* × *Lamarckiana* spaltet mitunter durch crossing over die PP-Form ab; von dem Faktor P ist bekannt, daß er im 3-Ende von 3·4 liegt (R. 1933, S. 245). Die Verbindung des so entstandenen P-*albicans* mit *flectens* hat die normale Konfiguration 6, 4×2, also im einzelnen

$$\begin{matrix} albicans \\ flectens \end{matrix} \left\langle \begin{matrix} 1\cdot4 \\ 1\cdot4 \end{matrix} \right\rangle \left\langle \begin{matrix} 6\cdot10 \\ 6\cdot10 \end{matrix} \right\rangle \left\langle \begin{matrix} 9\cdot8 \\ 9\cdot8 \end{matrix} \right\rangle \left\langle \begin{matrix} 13\cdot12 \\ 13\cdot12 \end{matrix} \right\rangle \left\langle \begin{matrix} 2\cdot5 \quad 7\cdot14 \quad 11\cdot3 \\ 5\cdot7 \quad 14\cdot11 \quad 3\cdot2 \end{matrix} \right\rangle$$

Die Formel von *albicans*, die *3·11* (oder *3·5*) enthält, sagt aus, daß in der P-*albiflexa* der P-Faktor im 6-Ring liegt, dessen Triplette nicht homozygotisch verwirklicht werden können, daß die P-*albiflexa* also nicht nach P-p spalten kann. Und das ist auch gefunden.

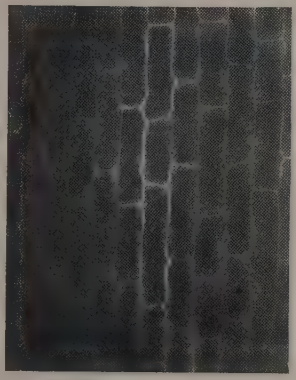
Literaturverzeichnis.

Catcheside, D. G., The extra chromosome of Oenothera Lamarckiana lata. Genetics **22,** 564—576 (1937). — Cleland, R. E., Species relationships in Onagra. Proc. Amer. Philos. Soc. **77,** 477—542 (1937). — Renner, O., Untersuchungen über die faktorielle Konstitution einiger komplexheterozygotischer Önotheren. Bibliotheca Genetica. Heft 9. Berlin 1925. — Ders., Zur Kenntnis der Letalfaktoren und des Koppelungswechsels der Oenotheren. Flora **127,** 215—250 (1933). — Ders., Zur Kenntnis der nichtmendelnden Buntheit der Laubblätter. Flora **130,** 218—290 (1936).

Druck von Ant. Kämpfe in Jena

1

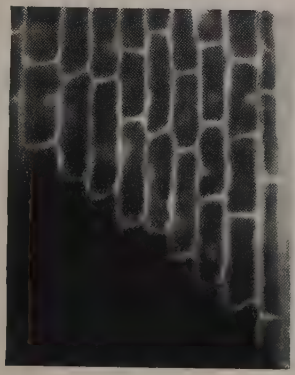
2



3

4

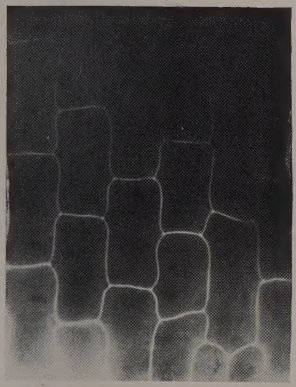
5



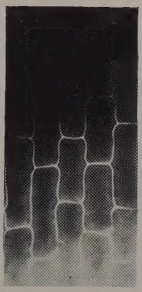
6

Strugger.

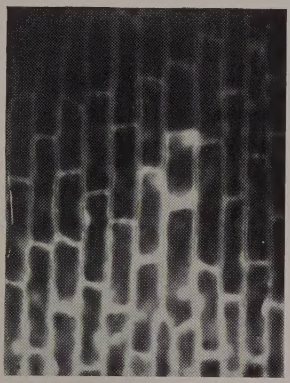
VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA



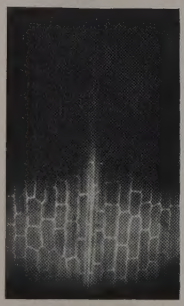
1



2

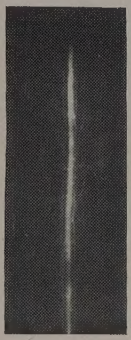


3

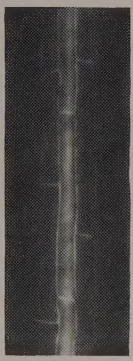


4

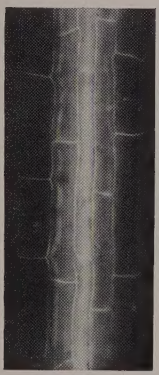
5



6



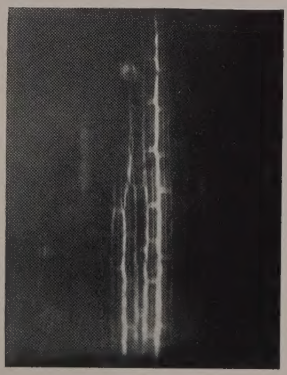
7



8

9

10



11

Strugger.

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA.

Neuere botanische Veröffentlichungen

aus dem Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lehrbuch der Allgemeinen Botanik. Von Dr. **F. A. F. C. Went,** o. Prof. der Botanik an der Univers. Utrecht. Vom Verfasser aus dem Holländischen übersetzt. Mit 274 Abbild. im Text. VI, 422 S. gr.8° 1933 Rmk 19.—, geb. 20.50

Deutsche Waldbäume und Waldtypen. Von Prof. Dr. **Walther Schoenichen,** Direktor der Staatlichen Stelle für Naturdenkmalpflege in Preußen. Mit 41 Skizzen im Text und 20 Waldbildern auf 10 Tafeln. XII, 208 S. gr.8° 1933 Rmk 14.—, geb. 15.50

Pflanzenchemie und Pflanzenverwandtschaft. Von Dr. **Hans Molisch,** emer. o. ö. Prof. u. Direktor d. pflanzenphysiolog. Institutes a. d. Univers. Wien. Mit 12 Abbild. im Text. VIII, 118 S. gr.8° 1933 Rmk 5—, geb. 6.—

Die Sexualität als Problem der Genetik. Versuch eines kritischen Vergleiches der wichtigsten Theorien. Von Dr. **Felix Mainx,** Privatdozent an der Deutschen Univers. in Prag. III, 88 S. gr.8° 1933 Rmk 5.—

Hundert Jahre Tradescantia. Von **Ernst Küster,** Gießen. Mit 7 Abbild. im Text. III, 36 S. gr.8° 1933 Rmk 2.—

Vegetationskunde der Karawanken. Bearbeitet von **Erwin Aichinger,** Forstmeister in Klagenfurt (Kärnten). Mit 57 Abbild. im Text. („Pflanzensoziologie." Vegetationskundl. Gebietsmonographien. Bd. 2). XIII, 329 S. gr.8° 1933 Rmk 17.—, geb. 18.50

Die Flechten. Eine Einführung in ihre allgemeine Kenntnis. Auf Grund neuerer Forschungen und kritisch dargestellt von Dr. **Friedrich Tobler,** o. Prof. der Botanik an der Technischen Hochschule Dresden, Direktor des Botan. Instituts und Gartens. Mit 66 Abbild. im Text. V, 84 S. gr.8° 1934 Rmk 5.50

Der Abbau. Eine entwicklungsgeschichtliche Studie zum Senilitäts- und Fortpflanzungsproblem. Von Dr. **Franz Ragaller.** Mit 3 Abbild. im Text. V, 85 S. gr.8° 1934 Rmk 5.60

Geschichte des Botanischen Gartens der Universität Innsbruck. Von Prof. Dr. **E. Heinricher,** Vorstand des Gartens von 1889 bis 1928. Mit 5 Tafeln. 34 S. gr.8° 1934 Rmk 3.—

Pflanzenforschung. Herausgegeben von Prof. Dr. **R. Kolkwitz,** Dahlem-Steglitz.

Heft 16: **Die Eisenorganismen.** Systematik und Morphologie. Von Dr. **Paul Dorff.** Mit 40 Abbild. im Text. III, 62 S. gr.8° 1934 Rmk 3.60

Heft 17: **Experimentelle Studien über die Anpassung von Wasser- und Sumpfmoosen.** Von Dr. **Elsa Zastrow,** Berlin-Charlottenburg. Mit 43 Abbild. im Text. VI, 70 S. gr.8° 1934 Rmk 3.60

Heft 18: **Das Genus Cosmocladium.** Von Dr. **Jac. Heimans,** Amsterdam. Mit 8 Tafeln. III, 132 S. gr.8° 1935 Rmk 11.—

Heft 19: **Über die Hydratur der Pflanzen** und eine empirische Formel der Verdunstung und Transpiration. Von **Yasona Fukuda,** Prof. an der Mandschurischen Mediz. Hochschule, Mukden. Mit 21 Abbild. im Text. IV, 79 S. gr.8° 1935 Rmk 6.—

Die Wuchsstofftheorie und ihre Bedeutung für die Analyse des Wachstums und der Wachstumsbewegungen der Pflanzen. Von Dr. **P. Boysen Jensen,** o. Prof. der Pflanzenphysiologie an der Universität Kopenhagen. Mit 26 Abbild. im Text. VI, 166 S. gr.8° 1935 Rmk 7.50

Internationale Regeln der botanischen Nomenclatur. Angenommen von den Internationalen Botanischen Kongressen zu Wien 1905, Brüssel 1910 und Cambridge 1930. Dritte Ausgabe. XI, 152 S. (englisch, französisch, deutsch) Lex.-8° 1935 Rmk 7.—

Neuere botanische Veröffentlichungen

aus dem Verlag von Gustav Fischer in Jena

Pflanzengeographie auf physiologischer Grundlage. Von Dr. **A. F. W. Schimper,** weil. o. ö. Professor an der Universität Basel. Dritte, neubearbeitete und wesentlich erweiterte Auflage, herausgegeben von Dr. **F. C. v. Faber,** o. ö. Professor an der Universität München. Zwei Bände. Mit 614 Abbild. im Text und auf Tafeln und 3 geograph. Karten. XXXVI, 1612 S. gr.8° 1935 Rmk 90.—, geb. 97.—

Pflanzenphysiologie. Versuche und Beobachtungen an höheren und niederen Pflanzen, einschließlich Bakteriologie und Hydrobiologie mit Planktonkunde. Von Prof. Dr. **R. Kolkwitz,** Dahlem-Steglitz. Dritte, umgearbeitete Auflage. Mit 175 Abbild. im Text und 14 zum Teil farb. Tafeln. VII, 310 S. gr.8° 1935 Rmk 12.—, geb. 13.50

Die Pflanzenzelle. Vorlesungen über normale und pathologische Zytomorphologie und Zytogenese. Von **Ernst Küster,** Gießen. Mit 323 Abbild. im Text. XII, 692 S. gr.8° 1935 Rmk 34.—, geb. 36.—

Samenkeimung der Orchideen und Entwicklung ihrer Keimpflanzen. Mit einem Anhang: Praktische Orchideenanzucht. Von Dr. **Hans Burgeff,** Prof. der Botanik an der Universität Würzburg. Mit 186 Abbildungen im Text. VIII, 312 S. gr.8° 1936 Rmk 16.50, geb. 18.—

Pteridophyten und Phanerogamen Mitteleuropas. Unter gleichzeitiger Berücksichtigung der wichtigsten Wasser- und Sumpfgewächse des ganzen Kontinents von Europa. Bearbeitet von Prof. Dr. **Hugo Glück,** Heidelberg. („Die Süßwasserflora Mitteleuropas". Hrsg. v. Prof. Dr. A. Pascher, Prag. Heft 15.) Mit 258 Abbildungen im Text. XX, 486 S. Taschenformat 1936 Rmk 18.—, geb. 19.50

Einführung in die Allgemeine Pharmakognosie. Von Dr. **Otto Moritz,** Dozent für Botanik und Pharmakognosie an der Universität Kiel. Mit 8 Abbildungen im Text. XII, 350 S. gr.8° 1936 Rmk 15.—, geb. 16.50

Lehrbuch der Pharmakognosie für Hochschulen. Von Dr. **George Karsten,** o. ö. Prof. emer. a. d. Univers. Halle a. S., und Dr. **Ulrich Weber,** a. o. Prof. a. d. Univers. Würzburg. Fünfte, vollständig umgearbeitete und vervollständigte Auflage von G. Karstens Lehrbuch der Pharmakognosie. Mit 574 zum Teil farb. Abbild. im Text. VIII, 420 S. gr.8° 1937 Rmk 18 —, geb. 20.—

Die Bestimmung geschnittener Drogen in Teemischungen. Tabellen mit Erläuterung zum Gebrauch in Unterricht und Praxis. Von Apotheker Dr. **Karl Hummel,** Assistent am botan. Institut der Universität Tübingen. 26 S. gr.8° 1937 Rmk 1.30

Die Rose als Objekt der Züchtung. Von Dr. **H. v. Rathlef,** wissenschaftl. Leiter d. Zentralstelle f. Rosenforschung d. Vereins deutscher Rosenfreunde. Mit 6 Abbild. im Text u. 1 Tabellenbeilage. 82 S. gr.8° 1937 steif brosch. Rmk 4.50

Einführung in die Kaltsterilisationsmethode. Für den Gebrauch in botanischen, zoologischen, medizinischen, biologischen und biochemischen Laboratorien. Von Dr. rer. nat. **Gg. Schweizer,** Privatdozent für Botanik. Mit 23 Abbildungen im Text und 2 Tafeln. VII, 74 S. gr.8° 1937 Rmk 4.—, geb. 5.—

Geschichte der Botanik. Von den ersten Anfängen bis zur Gegenwart. Von Professor Dr. **Martin Möbius,** Frankfurt a. M. VI, 458 S. gr.8° 1937 Rmk 18.—, geb. 20.—

Der Einfluß einer Pflanze auf die andere (Allelopathie). Von Dr. **Hans Molisch,** emer. Professor u. Direktor des pflanzenphysiologischen Instituts an der Universität Wien. Mit 15 Abbildungen im Text. VIII, 106 S. gr.8° 1937 steif brosch. Rmk 4.50